VERGLEICHENDE IMMUNOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN BEI ENTZÜNDLICHEN LEBERERKRANKUNGEN

Reiner Frank

1972

Aus dem klinisch-chemischen Institut des Städtischen
Krankenhauses München – Harlaching

Chefarzt: Privatdozent Dr. M. Knedel

VERGLEICHENDE IMMUNOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN BEI ENTZÜNDLICHEN LEBERERKRANKUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Reiner F r a n k

aus

Grundmühlen

1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. M. Knedel
Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Schwiegk
Dekan: Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 11.4.72

I N H A L T

		Seite
1.	EINLEITUNG	4
2.	LITERATURTEIL	5-7
2.1.	Klinik der Lebererkrankungen	5
2.2.	Klinisch-chemische Befunde	6
2.3.	Histologie	6
2.4.	Immunologische Befunde	7
3.	MATERIAL UND METHODIK	13-15
3.1	Krankengut	13
3.2.	Klinisch-chemische Routinemethoden	15
3.3.	Histologie	15
3.4.	Serologische Methoden	15
4.	ERGEBNISSE	22-37
4.1.	Eiweißuntersuchung	22
4.2.	Immunglobuline	23-24
4.3.	Ergebnisse der serologischen Untersuchungen	25
4.4.	Empfindlichkeit der Untersuchungen	27
4.5.	Aufgliederung der Befunde	28
4.5.1.	AGK	28
4.5.2.	KBR	30
4.5.3.	Fluoreszenz	32
4.6.	Konsumptionstest-Vergleich mit anderen Methoden	34
4.7.	Antikörper und Immunglobuline	37
5.	DISKUSSION	40-46
5.1.	Beurteilung der Methoden	40
5.2.	Korrelation der Ergebnisse	43
5.3.	Zum Verlauf der Hepatitis	46
6.	ZUSAMMENFASSUNG	48
7.	LITERATURVERZEICHNIS	49-57
8.	LEBENSLAUF	59

1. EINLEITUNG

Unter den akuten Lebererkrankungen spielt die Hepatitis die wichtigste Rolle. Ihre Diagnose wird auf Grund klinischer, klinisch-chemischer und histologischer Befunde gestellt. Als Erreger dieser wichtigsten Infektionskrankheit vermutet man einen Virus, der bisher aber noch nicht nachgewiesen werden konnte. Verlaufsuntersuchungen haben ergeben, dass die akute Hepatitis in chronische Hepatitis und Zirrhose übergehen kann.

Bei einem Großteil der chronischen Lebererkrankungen sind aber Ursache und Krankheitsentstehung ungeklärt. Schon seit der Jahrhundertwende wird eine immunologische Entstehung vermutet. Es wurden Krankheitsbilder beschrieben, wie das der lupoiden Hepatitis, bei denen der Krankheitsprozess von selbst fortschreitet. Neben den Symptomen der Lebererkrankung treten noch andere Symptome auf, die bei Krankheiten mit gesicherter immunologischer Entstehung vorkommen, Polyarthritis, Polyserositis, nephrotisches Syndrom. Der Nachweis zum Beispiel des LE-Zellphänomens ist nicht krankheitstypisch, stützt aber die Diagnose: lupoide Hepatitis. Es wurden Antikörper gefunden, die für ein Krankheitsbild typisch schienen, und schließlich ließen sich bei fast allen Lebererkrankungen Antikörper nachweisen.

Führen Leberstrukturen zur Bildung von Antikörpern? Sind die nachgewiesenen Antikörper organ-, spezies- oder krankheitsspezifisch? Antikörper kann man mit Globalnachweisen erfassen, z.B. durch den Antiglobulinkonsumptionstest mit Gesamtleberextrakt als Antigen oder die Immunfluoreszenz und mit speziellen Nachweisen für bestimmte Antikörper oder mit Zellfraktionen als Antigen. In den letzten Jahren wurden Methoden entwickelt, die erlauben, Lebererkrankungen auf Grund immunologischer Befunde einzuteilen.

In der vorliegenden Arbeit wurden Seren von Leberkranken mit gesicherter Diagnose mit verschiedenen immunologischen Methoden untersucht und die Ergebnisse der einzelnen Methoden untereinander verglichen. Die Diagnosen wurden nach klinischen, klinisch-chemischen und histologischen Befunden gestellt.

2. LITERATURTEIL

In der neueren Literatur werden für die chronisch-entzündlichen Lebererkrankungen vor allem zwei Krankheitsbilder beschrieben: die chronisch-persistierende und die chronisch-aktive oder chronisch-progressive Hepatitis. Ich gebe im folgenden ihre klinische Symptomatik und die klinisch-chemischen und histologischen Befunde wirder, da sie in dieser Arbeit zur Abgrenzung der Krankheitsgruppen verwendet werden. Daran schließt sich die Besprechung der immunologischen Befunde bei entzündlichen Lebererkrankungen an.

2.1. Klinische Symptomatik

Gemeinsam sind den chronischen Lebererkrankungen die Symptome Müdigkeit, Oberbauchbeschwerden, Juckreiz.

chronisch-persistierende Hepatitis:
(Haug 23, Rössler 50, Schumacher 57)
Man findet die Zeichen einer subakut anikterisch verlaufenden Hepatitis: die Leber ist vergrößert, dagegen ist die Milz meist unverändert. Kein Fieber . Der Verlauf ist gutartig. Corticoide sprechen kaum an.

chronisch-aktive Hepatitis:
(Berg 3, Dölle 10, Popper 46, Rössler 50, Scheiffarth 52, Schmid 53, Schumacher 57)
Sie tritt bevorzugt bei Frauen auf, mit einem Altersgipfel zwischen 10 und 20 Jahren und einem zwischen 50 und 60. Neben der Leber ist häufig auch die Milz vergrößert, man findet Aszites, Fieber, Gewichtsverlust, Gelenkbeschwerden. Gelegentlich treten Exantheme, hämolytische Anämien, Polyserositis auf. Nach schubweisem Verlauf führt die Krankheit innerhalb weniger Jahre zum Tod. Die Entzündungszeichen bilden sich unter Corticoid-Behandlung oft zurück.

Die lupoide Hepatitis, die 1956 von Mackay zum ersten Mal beschrieben wurde, ist eine Form von chronisch-aktiver Hepatitis mit besonders schwerem und kurzem Verlauf.

Ähnliche Symptomatik zeigen Virushepatitis, dekompensierte Zirrhose und primär biliäre Zirrhose.

Die primär biliäre Zirrhose befällt Frauen im mittleren

Lebensalter. Sie beginnt schleichend mit Zeichen von intrahepatischer Cholestase und mit Malabsorptionssyndrom.

2.2. Klinisch-chemische Befunde:

Die akute Hepatitis ist durch stark erhöhte Transaminasen und hohe Bilirubinwerte gekennzeichnet.
Unter den chronischen Lebererkrankungen bestehen geringe Unterschiede. Transaminasen und Bilirubin sind leicht erhöht. Bei chronisch-aktiver Hepatitis und bei Zirrhose können sie intermittierend ansteigen.

Die Gamma-Globuline sind bei der persistierenden Hepatitis normal bis leicht erhöht. Sie steigen bei chronisch-progressiver Hepatitis und bei Zirrhose stark an. Waldenström leitete daraus 1950 den Begriff "progrediente chronische Hepatitis mit Hypergammaglobulinämie" ab.

Ferner findet man eine erniedrigte Prothrombinzeit und erhöhte Enzymwerte.

Klinik und Blutchemie erlauben nur bedingt die Abgrenzung der chronisch-entzündlichen Lebererkrankungen.
(Berg 3, Gros 21, Haug 23, Kindler 30, Popper 46, Rössler 50, Schumacher 57)

2.3. Histologie

Eine internationale Kommission hat im Juli 1968 eine Definition und Einteilung der chronischen Hepatitis ausgearbeitet.
(De Groote et al. 20)

chronisch persistierende Hepatitis:
chronisch-entzündliche Infiltration, vorwiegend periportal, mit erhaltener Läppchen-Architektur und geringer oder fehlender Fibrose. Keine oder nur geringfügige Mottenfraßnekrosen.

chronisch-aggressive Hepatitis:
chronisch-entzündliche Infiltration der periportalen Felder mit Übergreifen auf die angrenzenden Läppchenbezirke, Mottenfraßnekrosen und Bildung intralobulärer Septen. Architektur der Läppchen gestört, jedoch ohne knotigen regeneratorischen Umbau.

Es handelt sich hier um Reaktionsformen der Leber auf ver-

schiedenartige Einflüsse, die keinen Rückschluß auf die Ätiologie zulassen. Die verschiedenen Formen der Zirrhose zeigen neben dem Parenchymuntergang mit entzündlicher Infiltration Fibrosierung und regeneratorischen Umbau.

2.4.Immunologische Befunde

1. Autoimmunprozess

Im Jahre 1955 wiesen Joske und King bei Fällen von chronischer Hepatitis LE-Zellen nach. Andere Autoren fanden als immunologische Begleiterscheinungen Rheumafaktor, erhöhten Antistreptolysintiter, LE-Faktor und falsch positive Wassermannreaktion. Systematische Untersuchungen mit der Komplementbindungsreaktion ergaben, daß besonders bei chronischer Hepatitis und bei Zirrhose Antikörper nachzuweisen waren. Als Antigene dienten Homogenate aus verschiedenen menschlichen und tierischen Organen und es wurden verschiedene Erkrankungen untersucht. Die Antikörper wurden nicht als organ- spezies- oder krankheitsspezifische angesehen. Es wurde auch die Möglichkeit diskutiert, daß durch Gammaglobulinaggregate oder als Folge von Enzymeinwirkungen unspezifische Reaktionen ausgelöst würden. Mit subzellulären Fraktionen ließen sich Antikörper gegen Mitochondrien, Zellkerne und gegen Cytoplasma nachweisen. Bei zwei Krankheitsbildern - bei primär biliärer Zirrhose und bei chronisch-progressiver Hepatitis - traten gehäuft und hochtitrig Antikörper auf. (Übersicht bei Berg 3, und bei Steffen 65).

Die serologischen Befunde lassen sich nur schwer vergleichen, weil verschiedene Antigene und unterschiedliche Methoden verwendet werden.

Seren von Leberkranken wurden mit Leberextrakt als Antigen mit folgenden Methoden untersucht: Komplementbindungsreaktion, (Gajdusek, zitiert nach Steffen 65), Immunelektrophorese und Doppeldiffusion nach Ouchterlony (Licht 34, 35,36) Antiglobulinkonsumptionstest (Steffen 65, Roggenbach 49).
Antinukleäre Faktoren wurden nachgewiesen mit Fluoreszenz (Berg 3, 4, Havemann 24, Müller-Eckhardt 42, 43) mit der Komplementbindungsreaktion (Meyer zum Büschenfelde 41, Schumacher 58, Wiedermann 70,) dem Antiglobulinkonsumptions-

test (Beickert 2, Müller-Eckhardt 43, 42, Meyer zum Büschenfelde 41, Schumacher 58, Wiedermann 70).

Antikörper gegen Mitochondrien und Mikrosomen fand man mit der Immunfluoreszenz (Berg 3, 4) mit der Komplementbindungsreaktion (Berg 3, 4, Meyer zum Büschenfelde 40, 41, Schumacher 55, 56, Wiedermann 70), mit der Immunelektrophorese (Chordi 7, Schumacher 55, 56) und mit der Doppeldiffusion nach Ouchterlony Schumacher 55).

Hohe Titer von mitochondrialen Antikörpern sind spezifisch für chronisch aktive Hepatitis und primär biliäre und kryptogene Zirrhose und weisen auf ein Autoimmungeschehen hin. (Berg 3, Übersicht). Die mitochondrialen und mikrosomalen Antikörper sind nicht organ- oder speziesspezifisch. Sie kommen in niedrigen Titerstufen bei anderen Lebererkrankungen vor.

Ferner wurden nachgewiesen Antikörper gegen Basalmembranen von Nierenglomerula, gegen Thyreoglobulin, gegen Gallengänge und gegen homologes Gammaglobulin (Fluoreszenz, Latexteste). Einige Autoren beschreiben leberspezifische Antikörper und Antigene. (Chordi 7, Licht 33, 34, 35, 36, Meyer zum Büschenfelde 39, 40, Schumacher 59). Die Autoren geben verschiedene Zahlen und Eigenschaften der Antigene und Antikörper an. Sie wandten stets dieselbe Methode an: Sie immunisierten Kaninchen mit menschlichen Organextrakten und mit Humanserum und stellten durch wechselseitige Diffusionsversuche ein Antigenspektrum auf, aus dem nach Absorption mit Zellfraktionen verschiedener Spezies und Organe einige leberspezifische übrig blieben. Die Gewebshomogenate und die damit hergestellten Antiseren sind sehr unterschiedlich zusammengesetzt. Deshalb weichen die Befunde voneinander ab.

Als besonders empfindliche und spezifische Methode für die Erfassung immunologischer Leberkrankheiten gilt die Immunfluoreszenz. Sie erfaßt eine Reihe verschiedener Antikörper und die mit ihr gewonnenen Ergebnisse sind durch andere Methoden zum Beispiel die Komplementbindungsreaktion bestätigt. (Berg 3):

Im klinisch-chemischen Institut des Krankenhauses München-

Harlaching wurde zum Nachweis antinukleärer Faktoren bei Lebererkrankungen der Antiglobulinkonsumptionstest nach Steffen (65, Lehrbuch) verwendet.

Als Antigen wurden überwiegend Kalbsthymuskerne verwendet: (Beickert 2, Deicher 9, Meyer zum Büschenfelde 41, Schumacher 55, 58) verwendeten auch Kalbsleberkerne.

Um die nachgewiesenen Antikörper näher zu charakterisieren, haben wir als Antigen statt Leberhomogenat aus Kalbsleber Zellkerne aus Kalbs-, Schweine- und Menschenleber verwendet. Folgende Fragen sollten geklärt werden:

- Bestehen Unterschiede zwischen Antigenen aus homologem und heterologem Organmaterial?

- Wie lassen sich die Ergebnisse des Antiglobulinkonsumptionstestes (AGK) diagnostisch verwerten?

- Lassen sich die Befunde den Ergebnissen anderer Untersuchungen zuordnen?

Die Seren wurden deshalb parallel zu unseren eigenen Untersuchungen im immunologischen Labor Dr. Berg (medizinische Universitätsklinik Tübingen) mit der Immunfluoreszenzmethode (Fl) und mit der Komplementbindungsreaktion zum Nachweis mitochondiraler Antikörper (KB) untersucht.

2.4. 2. Infektion

Neben der immunologischen Entstehung und anderen Faktoren wie Alkohol und medikamentöser Schädigung spielt die Virushepatitis eine wichtige Rolle bei der Entstehung der chronischen Lebererkrankungen. Die Infektion mit dem krankheitsauslösenden Virus dauert an und schädigt das Organ. Dabei ist auch die Möglichkeit zu erwägen, daß eine Infektion unbemerkt verläuft und erst der Endzustand, die chronische Hepatitis oder die Zirrhose sichtbar wird.

Es ist bisher noch nicht gelungen, den Virus darzustellen, zu isolieren, oder zu züchten. Verschiedene serologische Methoden versuchen, den Virus oder gegen ihn gebildete Antikörper zu erfassen. Eine Hämagglutinationsmethode zum Beispiel beruht auf der Beobachtung, daß Seren Hepatitiskranker Affenerythrozythen agglutinieren. (Jorke 27).

In unserem Labor werden Seren bei Verdacht auf Hepatitis mit dem HIM-Test untersucht. Es handelt sich dabei um einen Latextest zum Nachweis von Antikörpern gegen das Hepatitsvirus. Aus dem Blut von Freiwilligen wurde ein Stoff isoliert, der serologisch mit dem Leberisolat eines tödlichen Falles von infektiöser Hepatitis identisch ist. Der nachgewiesene Antikörper reagierte in Agglutinations- und Agglutinationsinhibitionsversuchen nicht mit 59 bekannten menschlichen Viren, fand sich aber bei Hepatitis und infektiöser Mononukleose. (Einzelheiten bei Bolin 6, Weaver 69).

1964 fand Blumberg im Serum eines Australnegers ein Antigen, das er nach seiner Herkunft als Australia-Antigen bezeichnete (Au-AG). Es reagierte im Doppeldiffusionstest nach OuchterLony mit dem Serum eines Hämophiliepatienten, der zahlreiche Bluttransfusionen erhalten hatte. Dieses Antigen trat gehäuft bei Hepatitis, bei Leukämien und bei Mongolismus auf, während es in der Durchschnittsbevölkerung der USA in weniger als 1% nachweisbar war. Wenig später fand Prince mit der gleichen Methode ein Antigen, das nur bei der Serumhepatitis auftrat, und das er als S H - Antigen bezeichnete. Aus weiteren Untersuchungen folgte, daß die beiden Antigene weitgehend ähnlich oder sogar identisch sind. Übertragungsversuche mit Au-positivem Blut bestätigten den Zusammenhang mit Hepatitis. In elektronen-mikroskopischen Untersuchungen wurden virusähnliche Partikel in der Größenordnung des Hepatitisvirus nachgewiesen. (Übersicht bei Scriba 60, Henigst 25).

Die Tabelle "Übersicht Au-Ag" faßt die Befunde mehrerer Autoren zusammen. Die Schwankungsbreite der bisherigen Ergebnisse beruht auch hier auf der unterschiedlichen Empfindlichkeit der Methoden. (Komplementbindungsreaktion, Doppeldiffusion nach Ouchterlony, Überwanderungselektrophorese nach Pesendorfer). Die verwendeten Antiseren sind nicht einheitlich. Es wurde ferner über verschiedene serologisch unterscheidbare Typen des Au-Ag und Unterschiede bei der Normalbevölkerung berichtet. (Blumberg 5, Zuckermann 74, del Prete 47,48). Das Australia Antigen erscheint in der neueren Literatur unter der Bezeichnung Hepatitis-assoziiertes Antigen (HAA).

Übersicht Au-Ag

Autor		Krankheitsform+ ak	%	ps	pro	zi	Ca	Bemerkung
Blumberg	5	49/180	27		(6/9)	0/60		
Cossart	8	11/27	41					
Fox	13	5/17 3/7++		0/19	0/32	0/49• 0/31••		nicht bei Alkoholikern
Gitnick	15				3/31			Alkoholiker ausgeschlossen
Gocke	18	49/77			0/5 1/1•••	0/10	0/3	Au-AK bei 3/23 Transf.
Holland	26							2/32 Transf. mit Hep. 4/32 Transf. ohne Hep.
Kaboth	28	74/143 82/107	52 77	21/33 22/28	33/94 46/75	32/164 63/140		Doppeldiffusion KBR/Alkoholzirrhose neg.
Krassnitzky	31	13/30	42	0/17	9/15	30/102		Immunelpho
Krech	32	87/543	16					
London	37		20					Antiserum von Kaninchen
Sherlock	62						17/17	AK glatte Musk. fehlt oder schwach positiv
Vogel	67						18/45	
Wright	71	46/88 11/29++			6/24	0/44••		andere Erkrankg. 3/248 Au-AK neg.
Wright	72				7/38	19/38		AK glatte Musk. hochtitrig Au-Ag und AK glatte Musk. nie zugleich
Yeung	73	3/66 0/41	4,5 0					Au-AK bei 0/167 Transf.

\+ Krankheitsformen wie im Ergebnisteil abgekürzt
++ prolongierte Hepatitis
• kryptogene Zirrhose
•• primär biliäre Zirrhose
••• progressive Hepatitis in Verbindung mit PCP

Das Au-Ag wurde bei Fällen von chronischer Hepatitis gefunden, und zwar bei Fällen, bei denen in der Vorgeschichte keine akute Hepatitis zu ermitteln war. Wright (72) wies bei chronischen Lebererkrankungen das Au-Ag und Antikörper gegen glatte Muskulatur in hohen Titern nach, fand aber nie beides gleichzeitig. Nach den Untersuchungen von Sherlock (62) waren bei Au-Ag-positiven Leberkarzinomen Antikörper gegen glatte Muskulatur nicht oder nur in niedrigen Titern zu finden.

Die Beziehungen zwischen Au-Ag und den oben angeführten Antikörperbefunden sind nur wenig untersucht.

Angaben über den Immunglobulintyp findet man für Antikörper gegen das Au-Ag (Au-AK) (Holland 26, Wright 72), und für einige andere Antikörper (Gleichmann 17 - antinukleäre AK).

Es gibt keine Veränderung der Immunglobuline, die nur bei Leberkrankheiten vorkommt. Einige typische Befunde sind: starke Vermehrung von IgM, Vermehrung von IgG bei akuter Hepatitis, starke Vermehrung von IgG bei chronisch-progressiver Hepatitis und bei Zirrhose, Vermehrung von IgA bei toxischen Leberschäden, besonders bei Alkohol. (Fateh 12, Gleichmann 16,17, Rössler 50, Kindler 30). Die Vermehrung einzelner Immunglobuline wurde als Hinweis auf Art und Intensität der entzündlichen Reaktion gewertet.

In der vorliegenden Arbeit wurden Seren von Patienten mit entzündlichen Lebererkrankungen mit 6 serologischen Methoden untersucht. Als Vergleichsgruppen dienten eine Gruppe nichtentzündlicher Lebererkrankungen, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises und eine Gruppe chirurgischer Patienten, die mindestens zehn Bluttransfusionen erhalten hatten.

Der Vergleich der Methoden sollte klären:
- Die Empfindlichkeit der Methoden
- Beziehungen zwischen den Antikörpertypen
- Beziehungen zwischen Antikörpern und Immunglobulinen
- Diagnostische Möglichkeiten.

3. Material und Methodik

3. 1. Krankengut

Es wurden die Seren von 119 Patienten untersucht. Sie wurden in folgende Gruppen eingeteilt:

	Abkürzung:	
1. Akute Virushepatitis		ak n=31
2. Chronisch-persistierende Hepatitis		ps n=24
3. Chronisch-progressive Hepatitis		pro n=16
4. Zirrhose		zi n=14
5. Nichtentzündliche Lebererkrankungen		al n= 8
6. Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises		rh n= 7
7. Polytransfundierte		tr n=19

Die Zuordnung zu den Gruppen chronisch-persistierende und chronisch-progressive Hepatitis stützte sich auf den durch Leberpunktion gewonnenen histologischen Befund und die klinisch-chemischen Ergebnisse.

In der Gruppe der chronisch-persistierenden Hepatitis sind zusammengefaßt die Formen: chronisch-persistierende Hepatitis, Serumikterus mit Übergang in chronische Form und reaktive Hepatitis. Bei 5 Patienten fehlt die Histologie. Hier erschien die Zuteilung auf Grund einer früher durchgemachten Hepatitis und der gegenwärtig bestehenden Veränderungen der klinisch-chemischen Untersuchungsergebnisse berechtigt.

Die Gruppe nichtentzündlicher Lebererkrankungen enthält 3 Fälle von alkoholischer Fettleber, 4 Gallengangverschlüsse und eine Metastasenleber. Unter Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises sind 5 Fälle von primär chronischer Polyarthritis und immunhämolytischer Anämie sowie 1 Fall von rezidivierender Myokarditis und Perikarditis zusammengefaßt.

Die Gruppe Polytransfundierte umfaßt Patienten der chirurgischen Klinik,die mindestens 10 Bluttransfusionen erhalten haben.

Aufbewahrung der Seren

Die Seren wurden bei -20 Grad C eingefroren und bis zu einem Jahr gelagert.

Herkunft der Patienten

Für Seren und Einblick in die Krankenunterlagen bin ich folgenden Münchner Krankenhäusern zu Dank verpflichtet:

Städtisches Krankenhaus Harlaching:
1. med.Klinik-Chefarzt Prof. Bergstermann
2. med.Klinik-Chefarzt Prof. Schrader

1. Medizinische Universitätsklinik:
Priv.Doz.Dr. Eisenburg

Chirurgische Universitätsklinik
Urologische Universitätsklinik

Herr Dr. Götz, Leiter der Blutbank der Chirurgischen Klinik, überließ mir freundlicherweise die Seren der Polytransfundierten.

Geschlechtsverteilung und Altersverteilung in den Gruppen

Das Verhältnis Männer zu Frauen liegt insgesamt und in den einzelnen Gruppen etwa bei 1 : 1. Das Durchschnittsalter der an akuter Hepatitis Erkrankten (n=31) liegt bei etwa 40 Jahren; in der zweiten Gruppe etwa bei 45 Jahren; in den übrigen Gruppen liegt es um 55 Jahre.

Geschlechtsverteilung bei den entzündlichen Lebererkrankungen

	n	davon Frauen	Anteil in %
ak	31	18	58,5
ps	24	13	54,2
pro	16	7	43,5
zi	14	6	52,5
Summe	85	44	51,8

Altersverteilung (Mittelwerte hervorgehoben)

	n	MW	s
ak	31	**39**	15,5
ps	24	**45**	11,4
pro	16	**52**,4	16,5
zi	14	**57**,5	8,5

3. 2. Klinisch-chemische Routineuntersuchungen

Bei allen Patienten wurden zur Sicherung der Diagnose klinisch-chemische Untersuchungen durchgeführt; deren Methodik und Normalwerte sind nachstehend aufgeführt:

Zur Enzymbestimmung werden BIOCHEMICA-Test-Sätze der Firma BOEHRINGER, Mannheim, verwendet.

SGOT Normalwert im Serum: unter 12 mE/ml
SGPT Normalwert im Serum: unter 12 mE/ml
LDH Normalwert im Serum: unter 195 mE/ml
APh Normalwert im Serum: 38 - 138 mE/ml

Gesamtbilirubin wird nach JENDRASSIK, GROF bestimmt.
Normal: unter 1,0 mg/100 ml

Gesamteiweiß wird mit dem Biuretreagenz nach WEICHSELBAUM bestimmt.
Normalwert: 6,5 - 8 g/100 ml.

Die Elektrophorese wird als CAF-Elektrophorese durchgeführt.
Normalwert: Gamma-Globulin 18–22%
Absolutwert 1,3-1,6 g/100 ml

3. 3. Histologie

Die histologischen Ergebnisse wurden durch Leberpunktion nach Menghini gewonnen.

3. 4. Serologische Methoden

Antiglobulinkonsumptionstest (AGK)

Herstellung der Antigene

Leber: Die Organe stammen von gesunden Personen der Blutgruppe O positiv, deren Leber bei der Obduktion kurz nach dem Tode entnommen wurde. Bei Kalb und Schwein wurde die Leber schlachtfrisch abgenommen. Bis zur Verarbeitung wurden die Organe bei -20 Grad C aufbewahrt.

Verarbeitung: Die Darstellung von Leberzellkernen für den AGK haben mehrere Autoren beschrieben: Steffen 65, Schumacher 58, Deicher 9. Im einzelnen variieren die Zusammensetzung der Arbeitslösung und die Umdrehungszahlen und die Zahl der Durchgänge beim Zentrifugieren. Ich habe auf Grund

von Vorversuchen die Arbeitsvorschrift nach Steffen so modifiziert, daß man bei gegebenem pH und gegebener Osmolarität ein möglichst einheitliches, reproduzierbares Antigen gewinnt.

Arbeitslösung : Man löst in 0,9% iger Kochsalzlösung 8,85 g Saccharose und 2 g Zitronensäure pro Liter auf. Der pH-Wert dieser Lösung beträgt 2,5. In diese Lösung legt man bei Beginn der Präparation die Leberstücke ein und mit ihr werden alle weiteren Arbeitsgänge durchgeführt.

Präparation:Es wird im Kälteraum bei etwa 5 Grad C gearbeitet. Der Leberbrei wird während des Homogenisierens in einem Eisbad gekühlt.

Ein etwa 200 g schweres Stück Leber wird mit der dreifachen Menge an Lösung versetzt, mit der Schere kleingeschnitten und im Scherblatthomogenisator kurz zerkleinert, sodaß eine breiige Masse entsteht. Dieser Brei wird im Potter-Homogenisator (Firma Braun Melsungen) portionsweise 2 Min. bei mittlerer Umdrehungszahl verfeinert und mehrmals durch chirurgische Gaze in zunehmender Lagendicke filtriert, in Zentrifugengläser abgefüllt und in der Zentrifuge 10 Minuten bei 3000 Rpm zentrifugiert. Der Überstand wird abgesaugt, der Bodensatz mit der dreifachen Menge an Arbeitslösung aufgenommen. Es wird noch dreimal potterisiert, durch jeweils dickere Gazeschichten filtriert und mit den Umdrehungszahlen 3000, 3000 und 1800 abzentrifugiert. Der Überstand muss zum Schluß klar sein. Das einheitlich weiße Sediment zeigt im nach Pappenheim gefärbten Ausstrich die Zellkerne und ist frei von Erythrozyten. Dieser Bodensatz wird in wenig Arbeitslösung aufgenommen und in Petrischalen liophisiert.

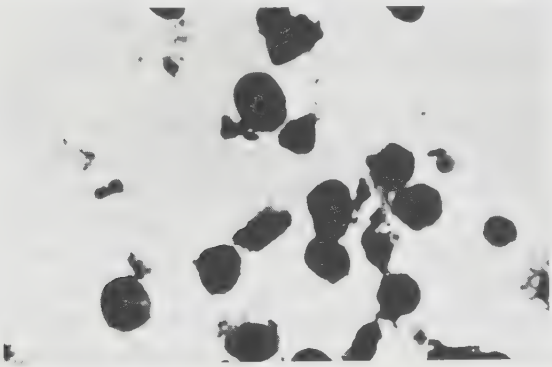
Man erhält etwa 1 g Substrat, das mit der dreifachen Menge an ausgeglühtem Quarzsand zu einem feinen Pulver verrieben wird.

Histologische Auswertung: Zur groben Orientierung über die Beschaffenheit des Antigens habe ich die Kerne in 3 Gruppen aufgeteilt:

Vollständige Kerne: dunkelblau, granuliert, rund-oval, mit scharfem, durchgehend erhaltenem Rand.
unvollständige Kerne: Begrenzungslinie durchbrochen, aus dem Chromatinknäuel treten spiralige Fäden aus.
Zellbruchstücke: um den Kern herum hängt unscharf begrenztes hellblaues Zytoplasma.

Der Anteil an Kernbruchstücken und Zellbruchstücken ist etwa gleich groß. Die vollständigen Kerne auf den Ausstrichen machen einen Prozentsatz von 85 - 90% aus. Der Bestand an hellblauen Plasmaschollen im Ausstrich läßt sich zwar vermindern, aber nicht gänzlich beseitigen, wenn man nach dem Zentrifugieren den Niederschlag mit einer großen Menge Lösung aufnimmt.

Das Verhältnis Kern zu Zytoplasma wird auch durch Verwendung der Ultrazentrifuge nicht verbessert.



Bewertung: Mit dem beschriebenen Präparationsgang wird eine Fraktion des Leberhomogenates dargestellt, die mit Kernen angereichert ist. Diese Fraktion enthält aber auf Grund des mikroskopischen Befundes auch andere subzelluläre Fraktionen. Die nachgewiesenen Antikörper können deshalb mit komplexen Kernantigenen, aber auch mit anderen Zellstrukturen reagieren. Diese Einschränkung sollte man auch bei den antinukleären Faktoren der genannten Autoren berücksichtigen.

(Beickert 7, Beisner 9, Licht 34, 37, Meyer-Buschenfeld 39, Mueller-Eckhardt 42,43, Schumacher 55,58).

Die Basiskonsumption (Steffen 63) kennzeichnet die Menge an unspezifisch gebundenem Gamma-Globulin. In Vorversuchen wird die Menge an Antigen ermittelt, die bei Inkubation mit Normalserum 1 Titerstufe Konsumption ergibt.

Die Bestimmung der Basiskonsumption, die für jede Präparation neu ermittelt werden muß, ist die Voraussetzung für vergleichbare (spezifische) Ergebnisse. Für alle 3 Substrate ergab sich die Menge von 3 mg, die in allen weiteren Untersuchungen als Standardmenge verwendet wurde. Die Substrate wurden mit Kontrollseren verglichen, die mit Leberhomogenat als Antigen positiv und negativ reagiert hatten.

Durchführung des AdK

Antigen: lyophilisierte Leberzellkerne von Mensch, Schwein und Rind.
Antikörper: im Serum werden inkomplette Antikörper gegen Leberzellkerne nachgewiesen.
Prinzip:
Antikörper lagern sich an Leberzellkerne an. Die beladenen Zellkerne werden mit einem Anti-Human-Globulin-Serum (Coombsserum) versetzt. Mit den darin enthaltenen Antikörpern bilden die Zellkerne Komplexe, die sich abzentrifugieren lassen. Das nichtgebundene Antihumanglobulin agglutiniert Rh-positive Erythrozyten, die mit Anti-Rh-Serum sensibilisiert wurden. Die Stärke der Agglutination entspricht der übriggebliebenen Menge an Anti-Humanserum (AHS). Die Agglutination unterbleibt, wenn das AHS durch Antikörper gebunden wurde. Der Verbrauch von AHS - die Konsumption - wird aus den Titerstufen einer Verdünnungsreihe abgelesen. Er gibt an, wieviele Antikörper vorhanden sind. Eine ausführlichere Beschreibung über die theoretischen Grundlagen und technischen Einzelheiten des AdK gibt Steffen (64,65).

Methodische Hinweise

Das Antihumanserum (Ortho) hat +-5 Titerstufen; es ergibt bis zur Verdünnung 1:1024 eine Agglutination.

Als Nachweissystem dienten zuerst Erythrozyten der Blutgruppe O Rh positiv, die mit Anti-Rh-Serum (Dade) sensibilisiert worden waren. Später verwendeten wir gebrauchsfertige Coombskontrollzellen (Merz und Dade), die bei geringerem Arbeitsaufwand gleichmäßigeres Arbeiten erlauben. (Haltbarkeit der beladenen Erythrozyten höchstens 4 Tage - Haltbarkeit der Coombskontrollzellen 4 Wochen).
Glasplatten: Von dem nach Steffen (65) angegebenen Muster und Schwenken von Hand für Vortitration und Agglutination ging ich über auf Platten für die Blutgruppenbestimmung und Schwenken auf einer Bewegungsapparatur der Fa. Kniese, Marburg.
Kontrollen: Bei allen Versuchen führte ich Ansätze mit Kochsalzlösung und Normalserum als negative Kontrollen mit. Um bei den Normalseren vergleichbare Ergebnisse zu bekommen, teilte ich von je zwei gesunden Blutspendern eine größere Serummenge in Portionen auf, die wie die übrigen Seren eingefroren und bei Bedarf aufgetaut wurden. Alle Laborwerte lagen im Normbereich. Gelegentlich wurde auch das Waschwasser des letzten Arbeitsganges mituntersucht.
Bewertung: Als negativ bewertet wurden 0 oder 1 Titerstufe-Unterschied zum Normalserum, 2 Titerstufen schwach positiv und 3 und mehr Titerstufen als deutlich positiv.
(Steffen, 64, 65, - Arbeitsbeschreibung der Fa Biotest und der Fa Immuno).

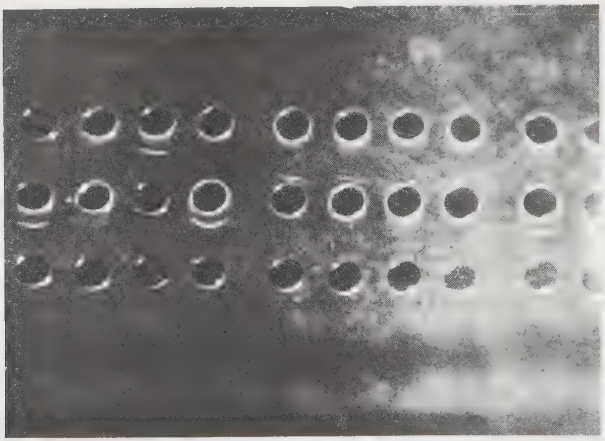
HIM-Test (Hepatitis - infektiöse Mononukleose-Test)

Der HIM-Test (Hersteller: Bolin Laboratories Inc. 4834 West Glendale Avenue, Glendale, Arizona) ist ein Nachweis für Serum-Antikörper bei Erkrankungen von Hepatitis und infektiöser Mononukleose. Als Antigen dienen Latexpartikel, die mit Virusisolaten beladen sind. Der Test wird in folgender Form durchgeführt: Serum und Viruslatex sowie Serum, Latex und Puffer-Kontrollen werden bei 37 Grad C 30 Min. inkubiert und dann bei 3500 Umdrehungen / min. 15 Minuten lang zentrifugiert. Die Latexpartikel werden ausgefällt, wenn Antikörper vorhanden sind: = positiver HIM-Test. Ausführliche Angaben über Virusisolierung und Testdurchführung finden sich bei Bolin (6).

Bestimmung des Australia-Antigen

Ich habe alle Seren immunelektrophoretisch mit dem Au/SH-Antigen-Reagenzsatz Immuno auf Antigen und Antikörper untersucht. (Pesendorfer 45).

Die Abbildung zeigt Beispiele von Au-Ag positiven Seren.



1 2 3 4 5 6 7 8 9

Erklärung der Abbildung:
Obere Reihe: Kontrollantigen
Mittlere Reihe: Patientenseren
Untere Reihe: Au/SH-Antikörper
Längsreihen: 1-Kontrolle,Kontrollantigen im mittleren Loch, oberes Loch leer, 3-Antikörper in der Patientenreihe, unten leer.

Antigenpositive Seren in 4 und 9, schwache Reaktion in 3 nach 1,5 Std. Die Präzipitationslinien in 5, 6, 9 oberhalb der Patientenreihe treten erst nach 2,5 Std. auf und entstehen durch Zusammentreffen von Antigen und Antikörper.

Cardiolipinflockungstest (WaR)

Testsatz der Behringwerke.- Die Cardiolipinflockungsreaktion, sowie die Blutgruppenbestimmungen verdanke ich dem Leiter des Bakteriologischen Instituts des Krankenhauses Harlaching, Herrn Dr. Schmiedel.

Immunfluoreszenz

Prinzip: Antikörper werden mit Fluoreszenzfarbstoffen beladen und auf diese Weise im ultravioletten Licht sichtbar gemacht. Autoantikörper verbinden sich auf Gefrierschnitten mit den als Ag wirksamen Zellbestandteilen und machen die antigenhaltige Stelle sichtbar.

An Gewebeschnitten von menschlicher und Rattenniere fluoreszierten Glomerula (Gl), Gefäßmuskulatur (M), Tubuli (Tub) und Kerne (K). Der Grad der Fluoreszenz wird von + bis +++ angegeben. (Berg 3, Goldmann 19).

Komplementbindungsreaktion zum Nachweis mitochondrialer Antikörper

Aus Nierenhomogenat der Ratte wurde die Mitochondrienfraktion isoliert. Sie diente in der KBR als Antigen. Es werden komplementbindende Antikörper nachgewiesen.
Bewertung: ab einem Titer von 1:4 positiv. (Berg 3, Walker J.G. et al. 68).

4. ERGEBNISSE

4.1. Eiweissuntersuchung

Auf dem elektronischen Rechner Wang 700 wurden Mittelwert (MW) und Streuung (s) für Gesamteiweiß (GE) und den relativen (Glob.rel.) und absoluten (Glob.abs.) Gammaglobulinanteil berechnet.

Die Mittelwerte der absoluten Gammaglobulinwerte sind in der Spalte % in Prozent des mittleren Normwertes (hier 1,6 g/100 ml) ausgedrückt. Die Normwerte finden sich im Teil Material und Methodik.

		GE		Glob.rel.		Glob.abs.		
	n	MW	s	MW	s	MW	s	%
ak	31	7,26	0,73	22,0	5,7	1,61	0,48	100
ps	24	7,22	0,73	20,1	3,9	1,69	1,26	106
pro	15	7,17	0,84	25,7	8,6	1,86	0,76	117
zi	14	7,08	1,03	26,7	8,1	1,89	0,60	118
al	8	6,78	1,04	24,3	7,34	1,61	0,40	100
rh	7	6,57	0,34	23,4	8,6	1,53	0,58	96
tr	19	6,81	1,29	23,2	5,4	1,57	0,48	98
	118							

-Gesamteiweiß:
Alle Mittelwerte liegen im Normbereich. In den Gruppen zi und al fällt die große Streuung auf.
-Gammaglobuline relativ:
Die Gruppen pro und zi sind deutlich erhöht, gleichzeitig ist der Streubereich sehr groß. Die Abgrenzung gegenüber ps ist gut möglich, ist aber nicht so eindeutig zu den Gruppen rh, al und tr.
-Gammaglobuline absolut:
Die Gruppe ps ist leicht erhöht und weist starke Streuung auf. Pro und zi sind bei geringer Streuung gleich hoch und deutlich erhöht. Die übrigen Gruppen liegen im Normalbereich.

4.2. Quantitative Immunglobulinbestimmung nach Mancini

Normalwerte:

In der Literatur finden sich uneinheitliche Angaben über die Höhe der Immunglobuline bei Kollektiven von "Normalpersonen".(Becker 1,Fateh 12,Gleichmann 16,Haferkamp22, Rössler 50,Roser 51). Die Schwankungen erklären sich durch die verschieden große Zahl der untersuchten Seren und durch unterschiedliche Zusammensetzung der untersuchten Gruppen. Nach Haferkamp (22) verändert sich der Immunglobulinspiegel z.B. in Abhängigkeit vom Lebensalter.

Ich lege meinen Untersuchungen die Normalwerte von Becker (1) zugrunde, da sie an einem großen Kollektiv (150 Personen)mit den gleichen Testsätzen - Partigenplatten der Fa. Behring - gewonnen wurden. Ich übernehme den Normbereich von der 5. - 95. Percentile. Bei der ungleichen Zusammensetzung des Patientengutes wäre ein enggefaßter Normbereich, wie bei Gleichmann (16) nicht zweckmäßig.

Mittelwerte und Streuung wurden wie vorher auf dem elektronischen Rechner Wang 700 gerechnet. Die Ergebnisse sind in der Tabelle Immunglobuline zusammengefaßt.Die Mittelwerte sind in der Spalte % in Prozent des mittleren Normwertes angegeben.

IgG: MW - 1250 s - 280 (800 - 1800 mg%)
IgA: MW - 210 s - 82 (90 - 450 mg%)
IgM: MW - 142,5 s - 57,5 (65 - 265 mg%)

-IgG:

Alle Mittelwerte bewegen sich im angegebenen Normbereich. ps und al liegen an der unteren Grenze. Auch pro liegt unter dem mittleren Normwert.

-IgA:

Bei zi als einziger Gruppe ist der Mittelwert erhöht, aber noch im Normbereich. Gleichzeitig ist hier die Streuung sehr groß. Die übrigen Werte sind niedriger als der mittlere Normwert, aber noch innerhalb des Normbereiches.

-IgM:

Zi ist stark erhöht bei starker Streuung,ak, al, pro sind leicht erhöht. Rh ist erniedrigt und liegt an der unteren Grenze des Normbereiches.

Immunglobuline

	n	IgG				IGA				IgM			
		n	MW	s	%	n	MW	s	%	n	MW	s	%
ak	31	30	1150	755	93	29	150	80	74	30	170	80	120
ps	24	23	910	340	73	24	177	110	83	24	138	80	97
pro	16	16	1090	500	87	15	169	93	81	15	182	106	128
zi	14	14	1200	550	96	14	267	174	122	14	247	127	174
al.	8	8	1105	520	88	8	192	73	91	8	195	137	138
rh	7	7	875	355	70	7	157	80	75	7	78	39	55
tr	19	17	1175	580	94	16	212	100	101	17	134	73	94
zus.	119	115				113				115			

4.3. Ergebnisse der serologischen Untersuchungen

Für jede Methode ist zuerst die Zahl der positiven Befunde und dann die Gesamtzahl der Untersuchungen angegeben. Die Abkürzungen der Methoden stehen im Methodenteil.

	n	AGK/H	AGK/S	AGK/G	HIM	Au-Ag	Au-Ak	WaR	KBR	FL
ak	31	8/31	8/24	2/29	27/31	2/30	-	1/29	18/29	8/22
	%	26	33,5	7	87	6	-	3,5	57	36,5
ps	24	9/23	7/20	5/21	18/24	0/24	-	1/23	17/21	5/19
	%	40	29	24	70	0	-	4	77	25
pro	16	6/14	5/12	3/13	14/16	2/14	-	1/16	8/15	8/14
	%	43	60	27	87,5	12,5	-	6,5	55,5	57
zi	14	6/14	4/12	4/11	10/14	1/14	-	1/14	11/13	8/10
	%	43	33	36	71,5	7	-	7	84,5	80
al	8	1/8	1/4	2/8	5/8	0/7	-	0/8	5/8	3/7
	%	12,5	25	25	62,5	0	-	0	62,5	43
rh	7	1 /7	0/3	0/3	2/7	0/7	-	0/7	2/6	0/4
	%	14	0	0	28,5	0	-	0	35	0
tr	19	2/14	1/11	1/8	6/16	0/16	-	0/12	14/19	8/18
	%	14	9	16,5	37,5	0	-	0	73	44,5
Summe:	119	33/111	26/86	17/93	82/116	5/112	-	4/109	75/111	40/94
	%	30	30	19	70	4,5	-	3,5	69	42

AGK:
Bei allen 3 Substraten ist die Zahl positiver Befunde bei den entzündlichen Lebererkrankungen deutlich höher, als bei den Vergleichsgruppen. Die positiven Ergebnisse sind bei ps höher als ak und bei pro und zi höher als bei ps (Humanleber H: ak = 26%, ps = 40%, pro = 43%, zi = 43%; Schweinsleber S: ak = 33,5%, ps = 29%, pro = 60%, zi = 33%; Kalbsleber K:ak = 7%, ps = 24%, pro = 27%, zi = 36%.

Mit Zellkernen von Humanleber fielen 30% der Teste positiv aus, bei Schweineleber 30% und bei Kalbsleber 19%. Der Unterschied Kalb - Schwein ist zu gering, um von Speziesspezifität zu sprechen. Er kann durch geringfügige Unterschiede der Antigenherstellung oder durch Schwankungen beim Ablesen der Titerstufen bedingt sein. Zwischen Antigenen aus homologem und heterologem Material besteht kein Unterschied.

HIM-Test:
In den Gruppen ak und pro waren je 87% der Seren positiv; die anderen Lebererkrankungen (ps,zi,al) ergaben in 60 - 70% positive Ergebnisse und hoben sich deutlich von den Vergleichsgruppen rh und tr ab, die nur in 28,5% und 37,5% positiv ausfielen. Positive Testergebnisse kamen in allen Gruppen vor, bei Lebererkrankungen etwa doppelt so oft wie bei den Vergleichsgruppen. Bei ak und pro liegen die Ergebnisse so hoch, daß ein negativer HIM-Test diese Gruppen praktisch ausschließt.

Australia Antigen und Antikörper:
Unter 112 Serumproben konnte 5x das Australia Antigen nachgewiesen werden. Davon in der Gruppe ak 2 von 30 (6%), bei pro 2 von 14 (14%) und von zi 1 von 14 (7%). Kein positiver Befund bei ps und den übrigen Gruppen.
Der Antikörper gegen Au-Ag kam in keiner Serumprobe vor.

Cardiolipinflockungsreaktion:
Von 109 Seren waren 4 positiv, und zwar je eines von der Gruppe ak, ps, pro, und zi. Nebenreaktionen und klinische Befunde schlossen eine Syphilis aus. Solche falsch positiven Reaktionen sind von verschiedenen Autoren beschrieben worden.(Lit. bei Berg 3).

KBR:
Mitochondriale AK sind bei allen Gruppen nachzuweisen, am wenigsten bei den rheumatischen Erkrankungen mit 35%. In den übrigen Gruppen waren mehr als 50% AK vorhanden. Die höchsten Ergebnisse ergab die Gruppe zi mit 85% und dann ps mit 77%.

Fluoreszenz:
Von 95 untersuchten Seren waren bei rh alle negativ. Bei den entzündlichen Lebererkrankungen ist von ak (36,5%)über ps (25%) und pro (57%) bis zi (80%) eine ansteigende Tendenz zu beobachten.

4. 4.Empfindlichkeit der Untersuchungen

Zahl der positiven Reaktionen pro Gesamtzahl der Untersuchungen nach absteigender Häufigkeit geordnet:

HIM	82/116 - 70,5%	
KBR	75/112 - 69 %	
Fluo	40/ 95 - 42 %	
davon:gl M	29/ 94 - 31 %	
Kerne	8/ 94 - 8,5%	
Tubuli	9/ 94 - 9,5%	
Glomerula	4/ 94 - 4,5%	
AGK gesamt:	76/287 - 26 %	
AGK H	33/112 - 30 %	
AGK S	26/ 86 - 30 %	
AGK K	17/ 93 - 19 %	
Au-Ag	5/112 - 4,5%	
WaR	4/109 - 4 %	

Die empfindlichsten Untersuchungen sind mit etwa 70% positiven Ergebnissen der HIM Test und der Nachweis mitochondrialer AK mit der KBR. Bei der Fluoreszenz (42% positiv) waren Antikörper gegen glatte Muskulatur mit 29/94 = 31 häufiger als AK gegen Kerne,Tubuli, Glomerula zusammen. Au-Ag und WaR sind nur in 4% positiv. HIM Test und KBR eignen sich wegen ihrer hohen Empfindlichkeit als Suchtests, WaR und Au-Ag sind nach dem Anteil positiver Ergebnisse als "spezifische" Tests anzusprechen, während Fluor und AGK eine Mittelstellung einnehmen.

4.5. Aufgliederung der Befunde

Im Abschnitt serologische Ergebnisse ist nur die Aussage, positives oder negatives Testergebnis, berücksichtigt. Weiteren Aufschluß gibt die Berücksichtigung der Titerstufen bei AGK und KBR und der Einzelstrukturen bei der Fluoreszenz.

4.5.1. AGK

4.5.1.1. Aufgliederung nach Titerstufen:

Als schwach positiv bewertet wurden 2 Titerstufen Konsumption (+); stark positiv sind 3 und mehr Titerstufen (++).

	+ H	S	K	zus.	++ H	S	K	zus.
ak	8	6	2	**16**	-	2	-	**2**
ps	4	3	4	**11**	5	4	1	**10**
pro	2	2	-	**4**	4	3	3	**10**
zi	2	2	1	**5**	4	2	3	**9**
al	1	1	2	4	-	-	-	-
rh	1	-	-	1	-	-	-	-
tr	1	-	-	1	1	1	1	**3**
	19	14	9	42	14	12	8	34

schwach-positive Reaktionen:

Gesamtzahl am höchsten bei ak (insgesamt 16),dann abnehmend bei ps (11),pro (7) und zi (5).H und S zeigen die gleiche Tendenz,K fällt weniger oft positiv aus;ps ist am häufigsten positiv.

stark positive Reaktionen:

ps, pro, zi - um 10 positive Ergebnisse je Gruppe. ak ist nur zweimal positiv. Die übrigen sind negativ.

4.5.1.2. Mehrfachbefunde:

Zur Bewertung der mit je drei AGK (H - S - K) untersuchten Seren wurden folgende Gruppen gebildet:

Gr. 1: von drei AGK sind 1 oder 2 schwach positiv (s=schwach)

Gr. 2: von drei AGK ist mindestens 1 stark positiv (m=mittel)

Gr. 3: von drei AGK sind mindestens 2 stark positiv (st=stark)

Die Tab.Mehrfachbefunde zeigt die Einzelergebnisse(s.Tab.u.Abb.) Bei den mit() versehenen Gruppen wurden weniger als 3/4 aller möglichen Untersuchungen durchgeführt,sodaß die Ergebnisse nur bedingt verwertbar sind. Diese Gruppen sind in der graphischen Darstellung mit ▼ gekennzeichnet.

Mehrfachbefunde AGK – Aufgliederung nach Prozentzahlen

(Erläuterung der Tabelle und der Abbildung im Text)

	n	npos	%	s	%	m	%	st	%
ak	31	13	42	11	36	2	6	–	––
ps	24	14	57	8	30	3	12	**3**	12
(pro)	(16)	(7	44)	1	6	3	19	**3**	19
zi	14	9	64	4	29	3	22	**2**	14
al	8	3	37	3	37	–	–	–	–
(rh)	(7)	1	14	1	14	–	–	–	–
(tr)	(19)	(3	16)	1	5	1	5	**1**	5
zus.	119	50	42	29	24	8	15	9	8

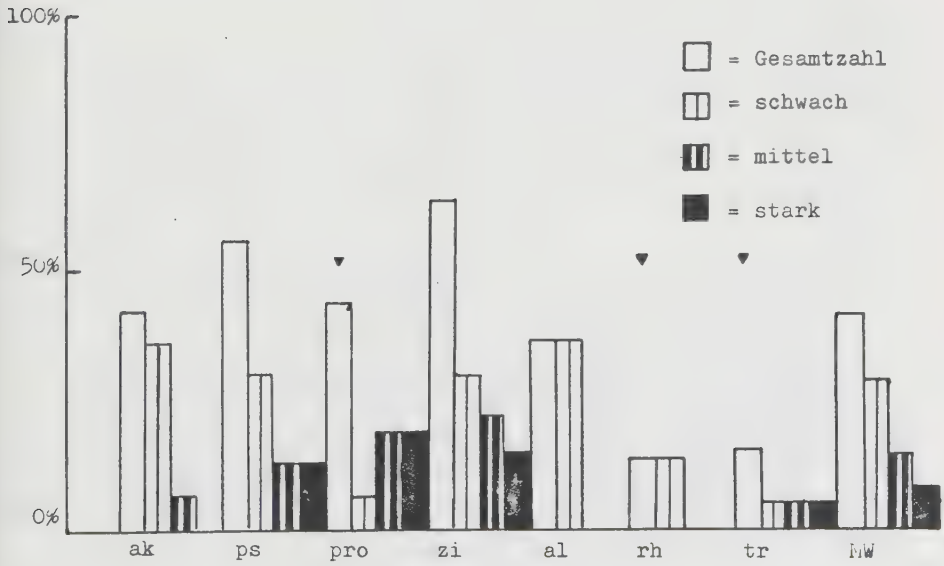


Abb.: Kern-Antikörper

Bei den entzündlichen Lebererkrankungen fiel der AGK etwa in der Hälfte positiv aus, bei nichtentzündlichen Lebererkrankungen nur in einem Drittel und nur zu 1/6 bei rh und tr. (Abb. Kolonne Gesamtzahl).

Die Zahl der Seren, bei denen positive Befunde zu erheben sind, steigen bei den entzündlichen Lebererkrankungen von ak (42%) über ps (30%) zu zi (64%) an.

Niedrige Titer (Gruppe s) sind am höchsten bei ak (36%) und fallen bei ps (30%) und zi (29%) ab.

Mittelhohe Titer (Gruppe m) kommen nur bei den entzündlichen Lebererkrankungen vor. Bei ak in 6,5%, bei ps in 26%, bei pro in 37,5% und bei zi in 36% der Fälle. Tendenz bei Vergleich der Gruppen: steigend von ak zu zi.

Hohe Titer (Gruppe st) kommen nur bei ps(12%) und bei pro (18,5%) und zi (14%) vor.

4.5.1.3.Diagnostische Verwertbarkeit

Niedrige Titer kommen gehäuft bei ak und ps vor, sind aber auch bei allen anderen Gruppen zu finden. Hohe Titer erlauben die Abgrenzung chronisch-entzündliche nichtentzündliche Erkrankungen. Dabei ist zu berücksichtigen, daß vorangegangene Transfusionen die Ursache für einen stark positiven AGK sein können.

Die Abgrenzung ps - pro ist nur bei mehrmaliger Durchführung des AGK möglich. Mehrfach hohe Titer beim Nachweis von Kern AK sprechen für pro und zi und schließen ps aus.

4.5.2. KBR- mitochondriale Antikörper - Aufgliederung nach Titerstuf.

In Tabelle und Abbildung sind zuerst die Gesamtergebnisse angeführt. Dann folgt die Aufteilung nach Titerstufen.

Tabelle: Titer angegeben als Kehrwerte.
Zusammengefasst sind: 1/4 - 1/8 = schwach,
1/16 = mittel
1/32 und höher = stark positiv.

	n	npos	%	Titer:	4/8	%	16	%	32	%
ak	29	18	62		9	31	6	21	3	10
ps	22	17	77		12	55	2	9	2	14
pro	15	8	53		2	13	2	13	4	27
Zi	13	11	85		6	46	2	15	3	23
(al)	8	5	62		1	12	1	12	3	37
(Rh)	6	2	33		-	-	1	17	1	17
Tr	19	14	74		3	16	5	27	5	27
Zus.	112	75	67		33	30	19	17	22	19

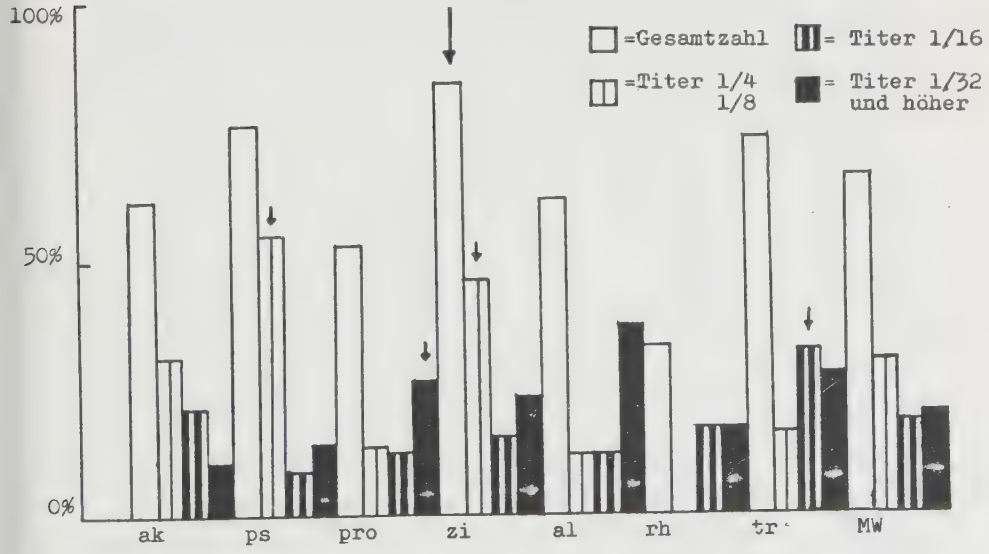


Abb.: Mitochondriale Antikörper

Von 112 Seren waren 30 schwach positiv, 17 mittel und 19 stark positiv. In den Gruppen ak (31%), ps (55%), und zi (64%) stellen niedere Titer einen hohen Anteil dar. In den übrigen Gruppen sind nicht mehr als 15% schwach positiv. Der Anteil mittlerer und hoher Titer nimmt bei ak ab, (21 - 10%), bei pro (13% - 27%) und Zi (15% - 23%) deutlich zu. Es fällt auf, daß in der Gruppe Polytransfundierte der Anteil mittlerer und hoher Titer (27, 27%) so groß ist wie bei pro und Zi. Die Gruppe al und Rh wird wegen der geringen Zahl der Untersuchungen nicht berücksichtigt. (3 von 8 Seren hochtitrig!)

Als Tendenz zeigen sich bei ak und tr überwiegend schwach positive Ergebnisse. Bei pro und Zi und tr lassen sich hochtitrig mitochondriale Antikörper nachweisen.

4.5.3. Fluoreszenz - Einzelbefunde

Mit der Immunfluoreszenz werden verschiedene Arten von Antikörpern erfaßt: Antikörper gegen Basalmembranen der Nierenglomerula (Gl), AK gegen glatte Muskulatur (M), gegen Nierentubuli (T) und gegen Zellkerne (Ke). Die Tabelle gibt die Befunde im Einzelnen wieder.

	n	npos	%	Gl	%	M	%	T	%	Ke	%
ak	22	8	36	1	5	7	32	1	5	-	-
ps	20	5	25	-	-	4	20	1	5	1	5
pro	14	8	57	-	-	5	35	2	14	3	21
zi	10	8	80	1	10	7	**70**	1	10	2	20
al	7	3	43	-	-	2	28	1	14	1	14
Rh	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tr	18	8	44	2	11	4	22	3	6	1	5
Summe	95	40	42	4	5	29	32	9	13	8	10

Bei 40 Seren waren 50 Einzelbefunde zu erheben: 28mal AK gegen glatte Muskulator, 9mal AK gegen Tubuli, 8mal Kern AK und 4mal AK gegen Glomerula. In der Gruppe rh waren alle Seren negativ.

AK gegen glatte Muskulatur waren in der Gruppe zi in 70% zu finden, die sich damit deutlich von den anderen Gruppen(um 30%, rh-negativ) abhebt.

AK gegen Tubuli kamen in allen Gruppen etwa gleich oft vor (MW = 13%). AK gegen Zellkerne waren im Vergleich zu den anderen Gruppen besonders hoch bei pro (21) und zi (20). AK gegen Glomerula waren bei ak, zi und bei tr zu finden.

Mehrfachbefunde

Bei einigen Seren wurden 2 oder 3 Antikörpertypen gleichzeitig nachgewiesen. Bei Mehrfachbefunden traten zwei Kombinationen auf, nämlich AK gegen Glomerula und Tubuli (bei ak und tr) oder starke Fluoreszenz der glatten Muskulatur und schwache Fluoreszenz der Kerne. Diese Verbindung kam bei ps, pro, zi und tr vor. In der Gruppe tr kamen beide Kombinationen vor. Kern AK fanden sich bis auf eine Ausnahme immer in Verbindung mit Ak gegen glatte Muskulatur.

Glomeruläre AK traten immer zusammen mit AK gegen Tubuli auf. Aus dem vorhandenen Material kann man nicht schließen, ob sich akute Hepatitis und chronisch-persistente und chronisch-progressive Hepatitis durch die Immunfluoreszenz unterscheiden lassen.

4.6. Vergleich des AGK mit anderen Untersuchungsmethoden

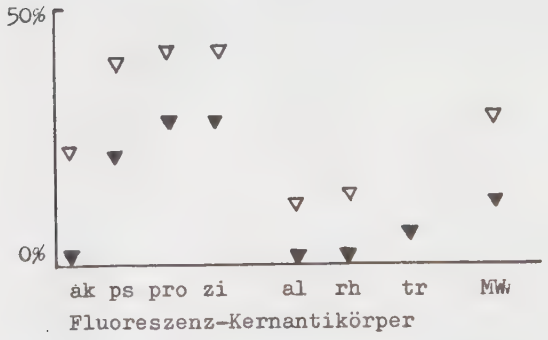
Ein Vergleich mit anderen Methoden soll klären, ob mit dem AGK Kernantikörper oder auf Grund gleicher Verteilungsmuster Antikörper gegen andere Strukturen nachgewiesen werden. Zum Vergleich werden die Ergebnisse des Fluoreszenz, und zwar Fluoreszenz der Kerne und der glatten Muskulatur, und die Ergebnisse der KBR herangezogen.

4.6.1. Kernantikörper

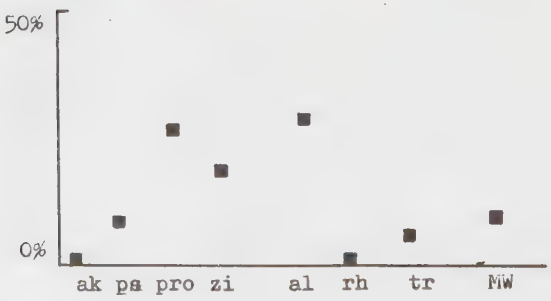
Die AK gegen Kerne zeigen bei AGK und Fluoreszenz die gleiche Verteilung. (siehe Abb.) Das vorhandene Material reichte nicht aus, um Übereinstimmungen zwischen beiden Methoden zu finden.

AGK-Humanleber – Nachweis antinukleärer Faktoren

Umrandete Symbole: positives AGK
vollschwarze Symbole: stark positives AGK, MW = Mittelwert



Fluoreszenz-Kernantikörper



4.6.2. AGK und Antikörper gegen glatte Muskulatur

Da bei der Fluoreszenz Kern-AK immer in Verbindung mit starker Fluoreszenz der glatten Muskulatur auftraten, wurden die Ergebnisse daraufhin untersucht, wo die beiden AK-Typen gemeinsam oder allein vorkommen.

Tabellen (s.unten): positiver Konsumptionstest - AK glatte Muskulatur - stark positiver AGK - AK glatte Muskulatur, alleinstehende Befunde sind mit M (AK gegen glatte Muskulatur) und AGK gekennzeichnet. Bei M + A kommen sie zusammen vor.

	AGK positiv				AGK stark positiv			
	n	M	AGK	M+A	n	M	AGK	M+A
ak	8	3	1	4	8	7	1	-
ps	13	2	9	2	9	3	5	**1**
pro	6	2	1	3	6	3	1	**2**
zi	8	2	1	5	8	5	1	**2**
al	3	1	1	1	2	2	-	-
rh	-	-	-	-	-	-	-	-
tr	5	2	2	1	4	2	1	**1**
Sa.	43	12	15	16	37	22	9	6

Die Zahl der Fälle, in denen AK gegen glatte Muskulatur und Kern-AK (AGK) gemeinsam vorkommen, ist bei den Zusammenstellungen zu gering, als daß man von gleichen oder ähnlichen Antikörpern sprechen könnte.

4.6.3. Kern AK - Mitochondriale AK

Es ist nicht möglich, das Substrat des AGK, die Leberzellkerne, frei von Zellorganellen darzustellen. Es können also nicht die Kerne, sondern andere Zellbestandteile als Antigen mit dem Serum AK reagieren. Mit einer Mitochondrienfraktion als Antigen werden in einer KBR mitochondriale AK nachgewiesen. In den folgenden Tabellen ist zusammengestellt, bei welchen Seren AK mit beiden Methoden nachzuweisen waren, (Spalte b), wann nur der AGK (Spalte Ke) oder nur die KBR (Spalte M) positiv ist. Die Spalte n gibt die Zahl der positiven AK-Nachweise an.

Der Vergleich wird einmal für alle Ergebnisse von KBR und AGK angestellt. In einer weiteren Tabelle - hohe Titer - sind nur hohe Titerstufen beim AGK und Titer ab 1/16 in der KBR berücksichtigt.

KBR-AGK					hohe Titer			
	n	b	Ke	M	n	b	Ke	M
ak	32	12	1	7	11	1	1	8
ps	30	11	2	6	11	1	5	4
pro	14	4	2	4	12	3	2	3
zi	19	7	1	4	10	2	2	3
al	8	1	2	4	4	-	-	4
rh	3	-	2	1	2	-	-	2
tr	17	2	1	12	13	1	1	10
zus.	**123**	**37**	**11**	38	**63**	**8**	**11**	34

Die Ergebnisse von AGK und KBR stimmen besonders in den Gruppen ak, ps und zi überein. Bei den hohen Titerstufen findet sich nur geringe Übereinstimmung. Die Zahl der Einzelbefunde AGK und KBR ist gegenüber der ersten Tabelle fast nicht verändert. Keine neue Erkenntnis bringt ein Vergleich der mitochondrialen AK mit den einzelnen Substraten des AGK. Bei Humanleber entsprechen die Ergebnisse eher den Ergebnissen der KBR als bei Schweineleber und bei dieser mehr als bei Kalbsleber. Bei keinem der Substrate findet sich volle Übereinstimmung.

Mitochondriale AK (KBR) und Kern AK (AGK) treten gemeinsam auf. Bei hohen Titerstufen ist die Summe von isoliert vorkommenden Kern AK und mitochondrialen AK fast unverändert. Diese beiden AK treten gemeinsam vor allem bei pro und zi auf, für welche diese Konstellation charakteristisch ist. Die Abnahme gemeinsamer AK -Befunde geht auf Kosten der niedrigen Titerstufen bei ak, ps und zi. Mit dem Substrat des AGK (Leberzellkerne) werden nicht mitochondriale AK, sondern ein eigenständiger AK erfasst. In den Gruppen ak, ps, zi kommen beide häufig in gleichen niedrigen Titerstufen vor.

4.7. Antikörper und Immunglobuline

4.7.1. Mehrfachbefunde bei Verwendung aller Methoden

Im Methodenteil sind sechs immunologische Nachweismethoden angegeben. Im Höchstfall können 11 AK-Nachweise positiv ausfallen, da der AGK mit drei Substraten ausgeführt wird, und bei der Fluoreszenz viererlei Ergebnisse möglich sind. Die Tabelle zeigt die Verteilung der je Serum nachgewiesenen AK aufgegliedert nach Krankheitsgruppen. Häufigkeitsgipfel sind hervorgehoben.

	n	o	1	2	3	4	5	6	7 (AK/Serum)
ak	31	2	**10**	5	6	6	-	2	-
ps	24	-	3	7	**11**	2	-	1	-
pro	16	-	1	5	**6**	1	2	-	1
zi	14	-	1	3	3	**5**	-	2	-
al	8	1	1	**4**	1	-	1	-	-
rh	7	3	**3**	1	-	-	-	-	-
tr	19	2	3	**8**	4	1	1	-	-
zus.	119	8	22	**33**	31	15	4	5	1

Bei den entzündlichen Lebererkrankungen steigt die AK-Zahl je Serum von ak (Maximum bei 1 AK/Serum) über ps und pro bis zur Gruppe zi an (Maximum bei 4 AK/Serum).

Die Gruppe rh fällt durch die geringe Zahl an AK auf.
Tr und al haben etwa die gleiche Verteilung wie ps und pro.
Hohe AK-Zahlen (6,7) finden sich aber nur bei den entzündlichen Lebererkrankungen. Da nicht alle möglichen Untersuchungen durchgeführt wurden, verschiebt sich die Aufstellung in Richtung auf höhere AK-Zahlen.

4.7.2. Immunglobuline - Überschreiten der Normgrenzen

In der Tabelle sind die Werte zusammengefaßt, welche die Normgrenzen überschreiten. Die Extremwerte erlauben am ehesten eine Zuordnung von Gammaglobulin und Immunglobulintyp oder von Immunglobulin und Antikörpertyp.

	erniedrigt				erhöht			
	GG	IgG	IgA	IgM	GG	IgG	IgA	IgM
ak	9	10	5	1	13	6	-	2
ps	8	12	5	3	7	1	1	1
pro	3	5	2	-	9	1	-	3
zi	2	2	1	1	10	2	2	4
al	1	2	-	-	2	1	-	3
rh	3	4	2	4	3	-	-	-
tr	6	5	1	2	8	2	-	1
zus.	32	40	16	11	52	13	3	14

Niedrige Extremwerte: Niedrige Gammaglobulinwerte kommen besonders bei ak, ps, sowie bei pro vor. Bei ak, ps und auch bei pro finden sich niedrige Werte von IgG und IgA.

Hohe Extremwerte: Hohe Gammaglobulinwerte fallen auf bei ak, bei pro und zi. IgM weist bei pro, zi und al mehrfach hohe Werte von IgM auf.

Die Gammaglobulin-Veränderungen lassen sich nicht mit Vermehrung oder Verminderung eines Igl-Typs in Zusammenhang bringen. Am häufigsten gehen Gammaglobulin und IgG-Veränderung parallel. Siehe auch die Tabellen Eiweißuntersuchung und Immunglobuline unter der Spalte Prozent des mittleren Normwertes.

4.7.3. Abweichung der Immunglobuline vom Normalbereich und AK-Zahl

Bei keinem der nachgewiesenen AK läßt sich eine Beziehung zu einem Igl-Typ zeigen. Das vorliegende Material reicht für eine derartige Aussage nicht aus. Das Auftreten eines AK muß nicht mit der Zunahme eines Immunglobulins verbunden sein, auch wenn der AK aus dem entsprechenden Igl-Typ besteht. Es erscheint aber sinnvoll, die AK-Zahl und die Abweichung der Igl vom Normbereich miteinander in Beziehung zu setzen.

AK	n	erniedrigt				erhöht			
		GG	IgG	IgA	IgM	GG	IgG	IgA	IgM
0	8	4	4	3	2	2	1	-	-
1	22	11	11	3	4	5	2	-	1
2	33	4	6	1	2	14	4	-	3
3	31	8	12	7	1	13	2	2	**5**
4	15	5	5	2	2	**9**	-	-	**2**
5	4	-	1	-	-	**3**	**1**	-	**1**
6	5	-	1	-	-	**5**	**2**	1	**2**
7	1	-	-	-	-	**1**	**1**	-	-
	119	32	40	16	11	52	13	3	14

Bei hohen AK-Zahlen kommen praktisch keine erniedrigten Igl-Werte vor, dagegen treten sie in den unteren Bereichen (0-4) besonders häufig auf.

Umgekehrt finden sich erhöhte Igl-Werte nur in geringem Ausmaß bei niedrigen AK-Zahlen. Erhöhte Igl-Werte gehen parallel mit hohen AK-Zahlen. Bei 4 - 7 AK sind fast immer die Gammaglobuline erhöht. Hervorzuheben sind auch die erhöhten IgM-Werte, die stärker als IgG oder IgA mit den AK-Zahlen korrelieren.

Die enge Beziehung zwischen Gammaglobulinspiegel und AK-Zahl läßt sich diagnostisch verwerten. Aus Elektrophorese und Gesamteiweiß kann man die absolute Menge an Gammaglobuline errechnen. Ein niedriger Wert spricht dafür, dass kaum AK zu erwarten sind. Bei hohen Werten sollten weitere serologische Untersuchungen durchgeführt werden.

5. DISKUSSION

5.1. Beurteilung der Methoden

119 Seren von Patienten mit entzündlichen Lebererkrankungen und von Vergleichsgruppen wurden mit 6 serologischen Methoden untersucht und die Immunglobuline gemessen.

Die quantitative Bestimmung von Gammaglobulinen und Immunglobulinen entspricht überwiegend den Angaben von Fateh 12, Gleichmann 16, Schumacher 55. Die absoluten Gammaglobulinwerte sind bei den chronischen Formen der Hepatitis erhöht. In meinen Ergebnissen sind die Gammaglobuline bei der progressiven Form mit 117% des mittleren Normwertes stärker erhöht als bei der persistierenden Form mit 106%. Bei Fuchs (14) sind sie für beide Formen gleichermaßen erhöht. Von den Immunglobulinen ist übereinstimmend mit den Literaturwerten IgM bei akuter und chronisch-progressiver Hepatitis sowie bei Zirrhose erhöht. Bei persistierender Hepatitis ist IgM wie auch bei Schumacher im Normbereich, während Gleichmann ein erhöhtes IgM fand. IgA ist bei Zirrhose erhöht. Bei meinen Ergebnissen ist es bei Zirrhose mäßig erhöht, dagegen bei progressiver Hepatitis mäßig erniedrigt. Alle Autoren beschreiben bei progressiver Hepatitis ein erhöhtes IgG. Mein IgG Wert ist erniedrigt; er ist aber von allen Untersuchungen aus der größten Gruppe ermittelt. Die Übereinstimmung bei den übrigen Befunden spricht dafür, daß kein Bestimmungsfehler vorliegt. Die Hyperglobulinämie bei jungen Frauen und Frauen in der Menopause mit chronischer Hepatitis war eines der zuerstgefundenen Merkmale der progressiven Hepatitis. Berg 3 und Gitnick 15 wählten für ihre Untersuchungen ausdrücklich Fälle mit deutlicher Gammaglobulin- und IgG-Erhöhung aus.

Meine Stadieneinteilung richtet sich vor allem nach der Histologie und dann nach klinischen und klinisch-chemischen Daten. Nach Marsteller (38) stimmen klinische, chemische, histo-

logische und immunologische Befunde nur in 50% der Fälle zusammen. Bei nicht extrem ausgebildeten Formen der progressiven Hepatitis sind Frauen und Männer gleich häufig betroffen. (Siehe 3.1.) IgG kann in diesen Fällen erniedrigt oder in Normbereich sein.

Auch die serologischen Untersuchungen entsprechen im wesentlichen ähnlichen Einzel- und Vergleichsuntersuchungen. Tilz (66) fand mit dem HIM-Test etwas niedrigere Prozentzahlen. Die Verteilung ist aber bei beiden Untersuchungen gleich. Die Häufigkeit der mit der KBR nachgewiesenen mitochondrialen Antikörper entspricht den Ergebnissen von Meyer z.Büschenfelde (41) und von Berg (3), wenn man nur hohe Titer (ab 1/32) berücksichtigt.

Auch das Verteilungsmuster der Immunfluoreszenz entspricht der Übersicht von Berg.

Beickert (2) und Schumacher (41) erzielten mit dem Konsumptionstest etwa gleiche Ergebnisse.Meyer (41) verwandte Kalbsthymuskerne als Antigen. Er wies damit einen geringeren Prozentsatz an Kernantikörpern nach. Steffen verwandte zirrhotische Leber als Substrat und fand einen höheren Prozentsatz.

Die Angaben über die Häufigkeit des Au-Ag. schwanken beträchtlich. (Siehe Übersicht im Literaturteil). Meine Ergebnisse entsprechen am ehesten denen von Krech (32), der wie ich bei ak nach zweimonatigem Krankheitsverlauf in etwa 5% das Au-Ag nachwies.

Bewertung

Eine vergleichende Untersuchung sollte den Aussagewert der einzelnen serologischen Methoden klären. Die in unserem Labor verwendeten Methoden stehen dabei im Vordergrund. Die Bewertung richtet sich dabei nach Empfindlichkeit, Spezifität bei entzündlichen Lebererkrankungen und nach dem Auf-

wand an Zeit und Untersuchungsmaterial.

Der HIM-Test ist die empfindlichste Methode. Er läßt sich leicht und schnell durchführen. Eine Untersuchung über den Ausfall des HIM-Testes bei Gesunden würde eine schärfere Abgrenzung gegenüber den Lebererkrankungen erlauben. Die Natur der an Latexpartikel angelagerten Antigene ist nicht näher untersucht. Schumacher (57) stellte fest, dass Latexteste bei entzündlichen Lebererkrankungen in hohem Prozentsatz und unspezifisch positiv ausfallen. Bei Meyer (41) kommen unspezifische Antiglobulinfaktoren nach den Erkrankungen des rhematischen Formenkreises am häufigsten (mit 5%) bei Lebererkrankungen vor.- Der HIM-Test ist wenig spezifisch. Ein negatives Testergebnis kann eine akute Hepatitis ausschließen, ein positives schließt aber noch nicht andere Lebererkrankungen aus.

Der Konsumptionstest ist mit 26% positiver Ergebnisse mäßig empfindlich. Er erlaubt bei chronischen Lebererkrankungen die Abgrenzung von entzündlichen und nichtentzündlichen Krankheitsformen und bei Mehrfachuntersuchungen auch die Unterscheidung zwischen chronisch-persistierender und chronisch-aggressiver Hepatitis. Der Test ist mit einfachen Mitteln durchzuführen, ist aber mit einem halben Tag Untersuchungszeit zeitlich aufwendig. Aus den vorliegenden Untersuchungen läßt sich schließen, daß die mit dem Konsumptionstest nachgewiesenen Antikörper nicht spezies- oder krankheitsspezifisch sind. Das Ergebnis müßte durch Absorptionsversuche noch erhärtet werden. Das Antigen dürfte aber zu komplex sein, um solche Feinheiten zu erfassen. Der Konsumptionstest mit Leberzellkernen als Antigen ist ein Globalnachweis. Er kann als orientierende Untersuchungsmethode diagnostisch verwendet werden.

Die Immunfluoreszenz ist ebenfalls ein Globalnachweis von etwa derselben Empfindlichkeit. (Müller 43). Sie hat sich als Grundlage zur Einteilung der Leberkrankheiten in auto-

immune und nicht-autoimmune bewährt (Berg 3). Da die als Antigen wirksamen Strukturen sichtbar werden, liefert sie differenziertere Ergebnisse als der Konsumptionstest. Bei gleichem zeitlichem Aufwand gewährt sie mehr Information. Die dafür notwendigen anspruchsvollen Geräte sind aber nicht jedem Labor zugänglich.

Die KBR zum Nachweis mitochondrialer Antikörper ist eine sehr empfindliche immunologische Methode. Sie verwendet gut definierte Antigene und weist spezifische für autoimmune Lebererkrankungen charakteristische Antikörper nach.

Der Nachweis des Au-Ag ist mit knapp 5% eine wenig empfindliche Methode. Sie ist sehr spezifisch für entzündliche Lebererkrankungen. Die physikalisch-chemischen und serologischen Eigenschaften des Au-Ag sind weitgehend untersucht. (Siehe Henigst 25). Die Beziehung zwischen Au-Ag und Hepatitis-Virus ist aber nicht geklärt. Der Ringversuch von Schober (54) zeigt, daß die auch für diese Untersuchung verwendeten käuflichen Antiseren sich durch gleichbleibende Spezifität auszeichnen und daß mit Doppeldiffusion und Elektrophorese das Au-Ag verläßlich und gut reproduzierbar nachgewiesen werden kann. Der elektrophoretische Nachweis ist empfindlicher als der mit der Doppeldiffusion nach Ouchterlony (Kaplan 29, Krassnitzky 31, Spielmann 63). Er ist einfach und schnell durchzuführen und für Serienuntersuchungen geeignet.

5.2. Korrelation der Ergebnisse

Die Verwendung von Methoden mit unterschiedlichem Reaktionsmechanismus erlaubt eine Aussage darüber, wie empfindlich eine Methode einen bestimmten Antikörper nachweist. Methoden, die nicht die gleichen AK-Typen erfassen, kann man zu einer Testkombination zusammenstellen.

Der Konsumptionstest (AGK) und seine möglichen Beziehungen

zu Fluoreszenz und KBR sind im Abschnitt 4.6. dargestellt. Kernantikörper waren mit dem AGK in 26% der Fälle, mit der Fluoreszenz in 8,5% der Fälle nachzuweisen. Der AGK ist bei gleicher prozentualer Verteilung auf die einzelnen Krankheitsgruppen für Kernantikörper empfindlicher. Zwischen den beiden Methoden finden sich keine Entsprechungen.

Nach Berg (3) reagieren mitochondriale Antikörper mit der Mitochondrienfraktion und mit distalen Nierentubuluszellen. Als Antigen wirkt das Cardiolipin der inneren Membranen von Mitochondrien. Ab einem Titer von 1/64 in der KBR ist deshalb eine positive Wassermannreaktion zu erwarten. Die Empfindlichkeit für den Nachweis mitochondrialer Antikörper ist bei der KBR 69%, bei der Fluoreszenz 9,5% und bei der Cardiolipinflockungsreaktion 3,5%. Bei meinen Untersuchungen entsprechen 5 positiven WaR 4 hohe Titer von mitochondrialen Antikörpern, und zwar in zwei Fällen von Zirrhose, einmal bei chronisch-progressiver Hepatitis und einmal bei chronisch-persistierender Hepatitis. Bei einem Fall von akuter Hepatitis war die KBR negativ, es fand sich aber tubuläre Fluoreszenz. Die tubuläre Fluoreszenz war in allen anderen Fällen mit einem KBR-Titer von mindestens 1/32 verbunden und fand sich gleichzeitig bei den WaR-positiven Seren. Die Fluoreszenz wäre als Suchreaktion geeignet. Für Titerbestimmungen bietet sich die KBR an.

Kernantikörper und mitochondriale Antikörper sind typisch für Autoimmunerkrankungen. Nach den elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Nowoslawski (44) ist das Australia Antigen (Au-Ag) an Leberzellkerne angelagert. Wright fand bei Fällen von chronischer Hepatitis Au-Ag und Antikörper gegen glatte Muskulatur, aber nie beide gleichzeitig. Nach Sherlock (62) kommen AK gegen glatte Muskulatur nur schwachtitrig zusammen mit Au-Ag vor. Au-Ag und Antikörper gegen Au-Ag wurden nicht gleichzeitig in einem Serum gefunden. Sennekamp (61) berichtet von einem Blutspender und einem

Zirrhotiker, bei denen gleichzeitig Au-Ag und antinukleäre Faktoren nachgewiesen wurden. Bei einem Fall von akuter Hepatitis traten in den von mir untersuchten Seren gleichzeitig Au-Ag und AK gegen glatte Muskulatur auf. Bei einem Zirrhosepatienten sind neben Au-Ag Antikörper gegen glatte Muskulatur und Kernantikörper (stark positiver AGK) nachzuweisen.

Positive WaR und Au-Ag treten nicht gleichzeitig auf, bei beiden sind jeweils eine Reihe anderer Antikörper vorhanden (WaR: ak- 6 AK in einem Serum nachgewiesen, pro - 6 AK, zi - 6 AK, ps - 2 AK; Au-Ag: ak - 6 AK, pro 2,2 AK, zi - 6 AK).

Diese Befunde könnten auf folgende Art zustande kommen. Das Australia-Antigen - ein mit dem Hepatitisvirus in Verbindung stehendes Partikel - lagert sich an Zellkerne an. Es löst die Bildung von Kernantikörpern aus. Gleichzeitig kommt es zur Zerstörung der Leberzellen. Die Kernantikörper treten erst nach dem Verschwinden von Au-Ag im Blut auf. Wenn sie in hohen Spiegeln vorhanden sind, können sie wieder zur Zerstörung von Leberzellen führen, ohne daß das Au-Ag noch vorhanden sein muß.

Antikörper und Immunglobuline:

Zwischen Immunglobulinanstieg und einzelnen Antikörpertypen läßt sich allein auf Grund der Häufigkeitsverteilung keine Verbindung herstellen. Kernantikörper gehören nach Gleichmann (17) und Schumacher (56) der IgG-Klasse an. Der Antikörper gegen das Au-Ag gehört ebenfalls zur IgG-Klasse. (Nowoslawski 44). Auch nach der Zugehörigkeit zum gleichen Immunglobulintyp wäre eine Identität oder Ähnlichkeit zwischen den beiden Antikörpern möglich.

Nach Fateh 12, Gleichmann 16, Schumacher 57 zeigt die Erhöhung von IgM die Reaktion auf Antigenexposition und einen floriden Entzündungsprozess an. Bei länger dauernder

Stimulation oder Zweitexposition werden Antikörper vom IgG-Typ gebildet.

Bei der akuten Hepatitis kommt es durch den Kontakt mit dem Hepatitisvirus zur Bildung von Antikörpern und zum Anstieg von IgM.

Ein hohes IgM bei progressiver Hepatitis und Zirrhose würde eine Auseinandersetzung des Organismus mit dem Hepatitisvirus anzeigen. Bei 4 von 5 Au-Ag-positiven Seren war IgM erhöht. Bei dem einen Fall von Zirrhose mit positivem Au-Ag, Kernantikörpern und Antikörpern gegen glatte Muskulatur war IgG und IgM erhöht.

5.3. Zum Verlauf der Hepatitis.

Antikörper wurden in allen Krankheitsgruppen nachgewiesen. Akute Hepatitis, chronisch-persistierende und chronisch-progressive Hepatitis und Zirrhose lassen sich nach den serologischen Ergebnissen als Stadien eines Krankheitsprozesses auffassen. Dafür sprechen das von Gruppe zu Gruppe ansteigende Durchschnittsalter (Altersverteilung 3.1.) und die zunehmende Zahl der Antikörper (4.7.1.) Die Aufschlüsselung nach Titerstufen bei AGK und KBR zeigt, daß die Titer ansteigen. (4.5.1. und 4.5.2.) Roggenbach (49) verwandte ein anderes Antigen-Spektrum und fand mit dem AGK ähnliche AK-Verteilungen und Titerverläufe. Meyer (41) stellte fest, daß mit zunehmendem Lebensalter unspezifische Antiglobulinfaktoren in höherem Maße festzustellen sind. Einige der hier verwendeten AK-Nachweise sind aber typisch für Lebererkrankungen und sehr spezifisch. Die serologischen Befunde wären dann Ausdruck des Leberschadens, unabhängig davon, ob die Antikörper Ursache oder Begleitphänomen des Krankheitsprozesses sind.

Hier ist die Einschränkung zu machen, dass in die Gruppen ps und zi Fälle aufgenommen sind, bei denen keine akute Hepatitis vorausgeht. Bei Alkoholleberschaden z.B. wies

Berg (4) Antikörper nur in niedrigen Titern nach.

In die Stadieneinteilung ist der Befund positives Au-Ag schwer einzuordnen. Kaboth (28) wies bei 21 von 33 Fällen von persistierender Hepatitis das Au-Ag nach. Zur Unterscheidung von persistierender oder progressiver Hepatitis ist der Nachweis des Au-Ag wahrscheinlich nicht geeignet.

Bei den Formen chronisch-progressive Hepatitis, primär-biliäre Zirrhose und kryptogene Zirrhose sind besondere Befunde zu erheben, die diagnostische Bedeutung haben. Kernantikörper, mitochondriale Antikörper sowie Antikörper gegen glatte Muskulatur in hohen Titern lassen sich in mehreren Methoden nachweisen. Ob eine Beziehung zwischen Australia-Antigen und Hepatitisvirus und den Autoimmunerkrankungen besteht, ist unklar. Auch über die Rolle der Leber im immunologischen Geschehen ist keine Aussage möglich. Für neue Untersuchungen bleibt ein weites Betätigungsfeld.

6. ZUSAMMENFASSUNG

119 Seren von Patienten mit entzündlichen Lebererkrankungen und von Vergleichsgruppen wurden mit 6 serologischen Methoden untersucht (Antiglobulinkonsumptionstest, HIM-Test, Immunfluoreszenz, Komplementbindungsreaktion, Australia-Antigen, Wassermann-Reaktion) und die Immunglobuline bestimmt. Es zeigten sich folgende Ergebnisse:

- Mit dem Antiglobulinkonsumptionstest (AGK) wurden Kernantigenkörper nachgewiesen. Zwischen den Antigenen aus heterologem (Kerne von Kalbs- und Schweinsleber)und homologem Material (Humanleber) besteht kein Unterschied.
- Der AGK erlaubt die Abgrenzung von chronisch-entzündlichen und nicht entzündlichen Leberkrankheiten. Bei mehrmaliger Durchführung ist eine Unterscheidung zwischen chronisch-persistierender und chronisch-progressiver Hepatitis möglich.
- Die Ergebnisse des AGK lassen sich nicht mit den Ergebnissen der Fluoreszenz oder der KBR zum Nachweis mitochondrialer Antikörper in Verbindung bringen.
- Die Methoden werden beurteilt nach Empfindlichkeit, Spezifität, Aufwand an Zeit und Material.
- Kernantikörper und mitochondriale Antikörper lassen sich mit mehreren Methoden nachweisen. Die Ergebnisse werden korreliert.
- Zwischen dem Anstieg eines Immunglobulins und dem Nachweis eines Antikörpers ließ sich keine Verbindung finden.
- Die Serologischen Ergebnisse sind für die Diagnose der autoimmun bedingten Lebererkrankungen sowie für den Verlauf der entzündlichen Lebererkrankungen von Bedeutung.

7 LITERATURVERZEICHNIS

1 Becker W., W.Rapp, H.G. Schwick und K.Störicko;
Methoden zur quantitativen Bestimmung von Plasmaproteinen durch Immunpräzipitation,
Zsch.f.klin.Chemie u. klin. Biochem., 6, 113,1968

2 Beickert A. und E. Bässler;
Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit antinukleärer Faktoren: des direkten LE-Zellen_Tests, des Loose-Bdy-Tests und des Antihumanglobulinkonsumptionstests,
Kli.Wo. 43,654,1965.

3 Berg P.A., D.Doniach, I.M. Roitt;
Immunologische Phänome bei Leberkrankheiten: Die Bedeutung mitochondrialer Antikörper,
Kli.Wo. 47,1297,1969

4 Berg P.A.;
Serologische Untersuchungen bei Patienten mit alkoholischer Leberschädigung und ihre diagnost. Bedeutung,
Kli.Wo. 49,663,1971

5 Blumberg B.S., A.I.Sutnick, Th. London
Australia Antigen as a Hepatitis Virus (Variation in Host Response),
Am.J.of Med. 48, 1,1970

6 Bolin V.S. et al.;
A virus-Latex agglutination test for detecting antibodies against isolates associated with viral antibodies,
Am.J. of clin path 49,635,1968

7 Chordi A.,T.Lledias, P.Sanamaria, C.Alvarez-Moreno and E.Ortiz de Landazuri;
Antigens of human liver cells: cytoplasmic, mitochondria and microsomal fractions,
Path, europ. 4,209,1969

8 Cossart Y., P.E.Taylor, J. Vahrhan, Zuckermann A.J.;
Australia -SH Antigen in Hepatitis Patients in London,
Brit.Med.J. 3, 755, 1969

9 Deicher H.;
Der Antiglobulin-Konsumptionstest in der Diagnostik des Lupus erythematodes visceralis,
Laboratoriumsblätter f.d.med.Diagn. 2,
Behringwerke, Marburg, Lahn

10 Dölle W.;
Die lupoide Hepatitis und biliäre Zirrhoseformen,
Dt.med.J. 20, 501,1969

11 Dudley F.J., R.A. Fox, S. Sherlock;
Relationship of hepatitis-associated antigen (HAA) to acute and chronic liver in jury,
Lancet 1971 II, 1

12 Fateh-Moghadam A et al.
Die Bedeutung der Immunglobuline für die Diagnose und Verlaufsbeurteilung von Lebererkrankungen
Kli.Wo. 47, 129, 1969

13 Fox R.A., S.P.Niazi, S.Sherlock;
Hepatitis-associated-antigen in chronic liver disease
Lancet 1969, II 609

14 Fuchs T., Immich H.;
Vergleichende Untersuchungen des elektrophoretischen Verhaltens der Serumeiweißkörper bei verschiedenen, diagnostisch gesicherten Lebererkrankungen in einem Untersuchungskollektiv von 913 Patienten.
Med.Welt 1970, 599

15 Gitnick G.L. et al.;
Australia antigen in chronic active liver disease with cirrhosis,
Lancet 1969 II 285

16 Gleichmann E. und H. Deicher;
Quantitative Immunglobulin-Best. im Serum bei entzündlichen Leberkrankheiten, I. Normalwerte und Untersuchungen im Verlauf der akuten Hepatitis
Klin. Wo. 46, 793, 1968

17 Gleichmann E. und Deicher H.;
Quantitative Immunglobulin-Best. im Serum bei entzündlichen Lebererkrankungen/ chronisch entzündliche Lebererkrankungen,
Klin.Wo. 46. 793, 1968

18 Gocke D.J. und N.B. Kavey;
Hepatitis Antigen,
Lancet I 1055, 1969

19 Goldmann M.;
Fluoreszent antibody methods,
Academic Press 1968

20 De Groote J. et al.;
Einteilung der chronischen Hepatitis,
Virchows Arch. 346, 199, 1969

21 Gros H. und K. Zwirner ;
Empfindlichkeit von Laboratoriumsuntersuchungen für die Erkennung chronisch-entzündlicher Lebererkrankungen,
Med.Klin. 63, 1577, 1968

22 Haferkamp O., D. Schlettwein-Gsell et al.;
Serumproteine im hohen Lebensalter unter Berücksichtigung der Immunglobuline und Antikörper
Kli.Wo. 44 , 725, 1969

23 Haug H.;
Die"persistierende Hepatitis" im Vergleich mit den anderen chronischen Verlaufsformen nach epidemischer Virushepatitis,
Kli.Wo. 46, 221, 1968

24 Havemann K. und P. Arend;
Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis antinucleärer Faktoren bei Lupus erythematodes und verwandten Erkrankungen,
Kli.Wo. 44, 19, 1966

25 Henigst W. und B. Abar;
Australia/SH-Antigen und Virus-Hepatitis,
MMW, 113, 1180, 1971

26 Holland P.V. et al.;
Failure of australia antibody to prevent post-transfusion-hep.
Lancet 1969 II, 553

27 Jorke D. und O. Hoffmeyer;
Hämagglutinationsreaktionen bei Hepatitis infektiosa,
Med.Klin. 59, 1699, 1964

28 Kaboth U. et al.;
Australia -(SH)-Antigen-Befunde bei Leberkranken und Blutspendern,
DMW 95, 2157, 1970

29 Kaplan M.M., G. Grady;
Serum-Hepatitis-Antigen in chronic hepatitis and primary biliary cirrhosis,
Lancet 1971 I, 159

30 Kindler U., D. Koch;
Zur Frage der Spezifität der Serum-Immunglobulinbestimmung bei der Diagnose der akuten Hepatitis im Vergleich zu anderen klinisch-chemischen Untersuchungen,
DMW 95, 1483, 1970

31 Krassnitzky O. et al.;
Australia/SH-Antigen und Lebererkrankungen
DMW 95, 249, 1970

32 Krech U., et al.;
Der Nachweis von Australia Antigen (Au-Ag SH-Ag) im Serum von gesunden und erkrankten Personen in der Schweiz,
Schweiz.Med.Woschr. 100, 649, 1970

33 Licht W. und G.A. Jutzler;
Über das Auftreten von Organproteinen der menschlichen Leber im Blutkreislauf Leberkranker,
Kli.Wo. 44, 1119, 1966

34 Licht W.;
Zur Frage leberspezifischer Antigene beim Menschen,
Kli.Wo. 44, 833, 1966

35 Licht W.;
Die Proteine der gesunden menschlichen Leber,
Zschr.f.Klin.Medizin 158, 196, 1964

36 Licht W.;
Die Proteine der cirrhotischen menschlichen Leber,
Zschr.f.klin.Medizin 158, 208, 1964

37 London W.T., et al.;
An epidemic of Hepatitis in a chronic-hemodialysis unit
Australia Antigen and differences in Host Response,
New England J.Med. 281, 571, 1969

38 Marsteller, H.J., G. Baack, R. Müller, W.K.Lelbach, D. Ricken;
Vergleich der Wertigkeit immunologischer, histologischer und klinischer Befunde bei akuten und chronischen Lebererkrankungen,
Vortrag, 77. Tagung, Dt.Ges.inn.Med. 1971

39 Meyer zum Büschenfelde K.H. und Ch. Schrank;
Untersuchungen zur Frage organspezifischer Antigene der Leber,
Kli.Wo. 44, 654, 1966

40 Meyer zum Büschenfelde K.H.;
Untersuchungen über die immunbiologische Bedeutung löslicher Leberproteine,
Zschr. gs.exp.Med. 148 , 131, 1968

41 Meyer zum Büschenfelde K.H.;
Klinische Untersuchungen zur immunologischen Spezifität des Leberparenchyms,
Arch.Klin.Med. 215, 107, 1968

42 Mueller-Eckhardt Ch. und H. Boehm;
Zum Problem des Nachweises antithrombocytärer Autoantikörper, (Vergl. Unters. mit dem AGK und dem Fluoreszenz-Antiglobulintest)
Kli.Wo. 46, 986, 1968

43 Mueller Eckhardt Ch., K. Schmidt, W. Becker;
Untersuchung zur Bedeutung des Fluoreszenzantiglobulintestes und des AGK-Testes zum Nachweis antinukleärer Serumfaktoren,
Verh.dt.Ges. inn.Med. 74, 904, 1968

44 Nowoslawski A., W. Brzosko, K.Madalinske, K.Krawdzynski;
Cellular localisation of Australia Antigen in the liver of patients with lymphoproliferative disorders
Lancet 1970, 494

45 Pesendorfer F., O. Krassnitzky und F. Wewalka;
Immunelektrophoretischer Nachweis von "Hepatitis Associated Antigen" (Au/SH-Antigen)
Kli Wo 48, 58, 1970

46 Popper H.;
Das Immunitätsproblem bei chronischen Lebererkrankungen
Triangel 7/4, 136, 1966

47 del Prete S., D.Costantino, M. Doglia;
Different Australia-Antigen determinants in acute viral Hepatitis,
Lancet II, 292, 1970

48 del Prete S., D. Costantino, M. Doglia, A.Grazina, A.Ajdukiewicz, F.J. Dudley, R.A. Fox, S. Sherlock;
Detection of a new Serum-Antigen in three empidemics of short incubation hepatitis
Lancet II, 579, 1970

49 Roggenbach H.J., C. Steffen, G. Brittinger, F.Lillemaier und H.R. Ewers;
Der Konsumptionstest bei Lebererkrankungen
DMW 96, 1960, 1970

50 Rössler R. und K. Havemann;
Zur Pathogenese der chronischen Hepatitis
DMW 95, 34, 1970

51 Roser H.;
Quantitative Immunglobulin-Bestimmungen bei Lebererkrankungen
MMW.112, 1392, 1970

52 Scheiffarth F. und H. Warnatz;
Die Pathogenese der chronischen Hepatitis als immunologisches Problem,
Kli.Wo. 43, 473, 1965

53 Schmid M.;
Zum Begriff der lupoiden Hepatitis,
DMW 95, 783, 1970

54 Schober A., U.Kaboth, R. Thomssen;
Probleme der Standardisierung der Au/SH Bestimmung,
DMW 96, 1628, 1971

55 Schumacher K.;
Isolierung und Charakterisierung anticytoplasmatischer Antikörper bei chron.-progr. Hepatitis,
Kli.Wo. 47, 960, 1969

56 Schumacher K.;
Die Bedeutung immunologischer Reaktionen für Diagnose und Pathogenese der chron. Hepatitis.
Kli.Wo. 47, 949, 1969

57/58 Schumacher K. und W. Koch;
Nachweis zirkulierender Auto-Antikörper bei chronisch-progressiver Hepatitis,
Kli.Wo. 46, 925, 1968

59 Schumacher K. und W. Schneider;
Differenzierung und Isolierung löslicher Organantigene aus Humanleber,
Kli.Wo. 47, 806, 1969

60 Scriba M.
Australia-Antigen und Virushepatitis
DMW 94, 2294, 1969

61 Sennekamp J.;
Australia Antigen und antinukleäre Faktoren - gemeinsames Vorkommen bei einem Leberkranken und einem Blutspender,
DMW 96, 1540, 1971

62 Sherlock S. R.A. Fox, S.P. Niazi, P.J.Scheuer;
Chronic liver disease and primary liver-cell cancer with hepatitis-associated (Australia) Antigen in serum,
Lancet I, 1243, 1970

63 Spielmann, W. und S. Seidl;
Zum derzeitigen Stand der HAA-Bestimmung in der Transfusion,
DMW, 96, 1588, 1971

64 Steffen C.;
Der Antiglobulin-Konsumptionstest
Kli.Wo. 40, 613, 1962

65 Steffen C.;
Allgemeine und experimentielle Immunologie und Immunpathologie,
Thieme Verlag Stuttgart 1968

66 Tilz G.P., R. Heschl, S.Sailer;
Serologischer Text für Virushepatitis (HIM-Test),
Med.Klin. 65, 1302, 1970

67 Vogel C. L., et al.;
Hepatitis-associated Antigen in Ugandan patient with hepatocellular Carcinoma,
Lancet II, 621, 1970

68 Walker J.G., I.M. Roitt, S. Sherlock;
Serological tests in diagnosis of primary biliary cirrhosis,
Lancet I, 827, 1965

69 Weaver D., J.D. King, Brown C.H.;
A clinical evaluation of the "HIM"-test
Am.J. of Clin Path. 49, 647, 1968

70 Wiedermann G., M. Doerner, P.A. Mischer;
Autoimmunitäre Vorgänge gegen Lebergewebe,
Schw.Med. Wschr. 94, 257, 1964

71 Wright R.et al.;
Australia Antigen in acute and chronic liver disease
Lancet II, 117, 1969

72 Wright R.;
Australia - Antigen and smooth-muscle antibody in acute and chronic hepatitis
Lancet, 521, 1970

73 Yeung-Laiwah A.C. et al.;
Australia Antigen in West of Scotland and North of England
Lancet II, 121, 1970

74 Zuckermann A. et al.;
Presence of particles other than the Australia - SH Antigen in a case of chronic active hepatitis with cirrhosis,
Brit. Med. J. 1, 262, 1970

Herrn Privatdozent Dr. M. Knedel danke ich für das Thema der Arbeit und für die hervorragenden Arbeitsbedingungen und die aufgeschlossene Atmosphäre, die ich in seinem Labor gefunden habe.

Fräulein H. Kirzeder und Herr Dr. S. Appel haben mich angeleitet und mir mit kritischem Rat zur Seite gestanden.

Herrn Privatdozent Dr. Berg, medizinische Universitätsklinik Tübingen, danke ich dafür, daß er mir entgegenkommenderweise die Ergebnisse der in seinem Labor durchgeführten serologischen Untersuchungen überließ.

Herrn Dr. Schmiedel, Leiter der bakteriologischen Abteilung des Krankenhauses München-Harlaching verdanke ich die Ergebnisse der Cardiolipinflockungsreaktion.

8. LEBENSLAUF

Am 15.4.1945 wurde ich als zweiter Sohn meiner Eltern Richard und Auguste Frank in Grundmühlen/ Sudeten geboren. Das Abitur legte ich 1964 am Realgymnasium in Augsburg ab.

Nach 12 Monaten Wehrdienst begann ich in München das Medizinstudium.

Vorphysikum 1966, Physikum 1968.

Das Studienjahr 1968/69 verbrachte ich in Montpellier/ Südfrankreich.

Danach war ich bis zum Staatsexamen im Juli 1971 wieder in München.

Seit Dezember 1971 bin ich Medizinalassistent an der I. Medizinischen Universitätsklinik an der Ziemssenstrasse München.